

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1938-1939 No 238

TRAVAIL DE LA CLINIQUE MÉDICALE INFANTILE

Professeur MOURIQUAND

Applications nouvelles de la Percuti-Réaction

Mise au point d'une tuberculine spéciale
pour percuti-réaction.

Percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée.

Dépistage des Brucelloses par percuti-réaction.

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 12 Juillet 1939

PUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Charles MÉRIEUX

Ancien Elève de l'Institut Pasteur

Diplômé de Sérologie et de Bactériologie

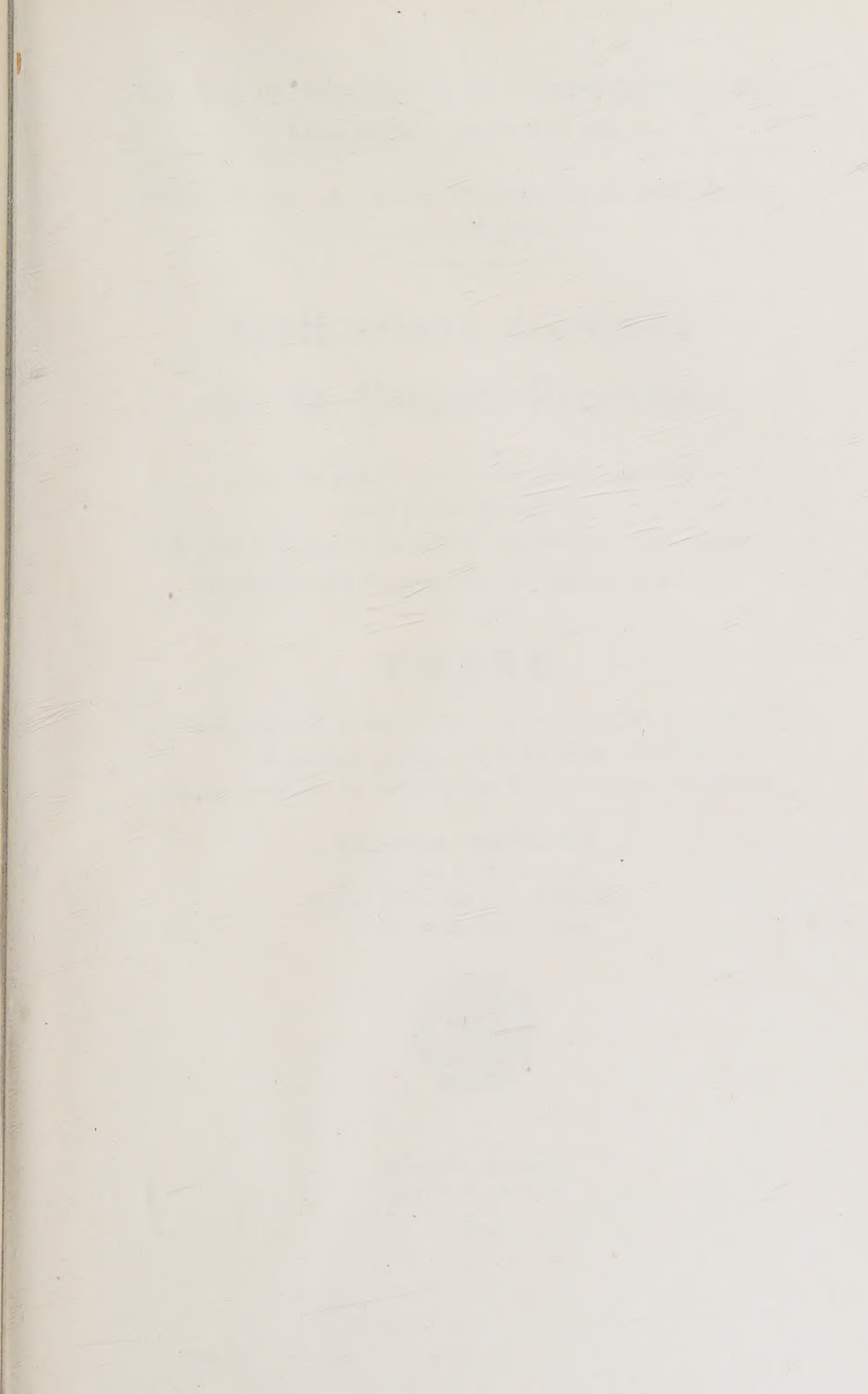
Né le 9 Janvier 1907, à Lyon.

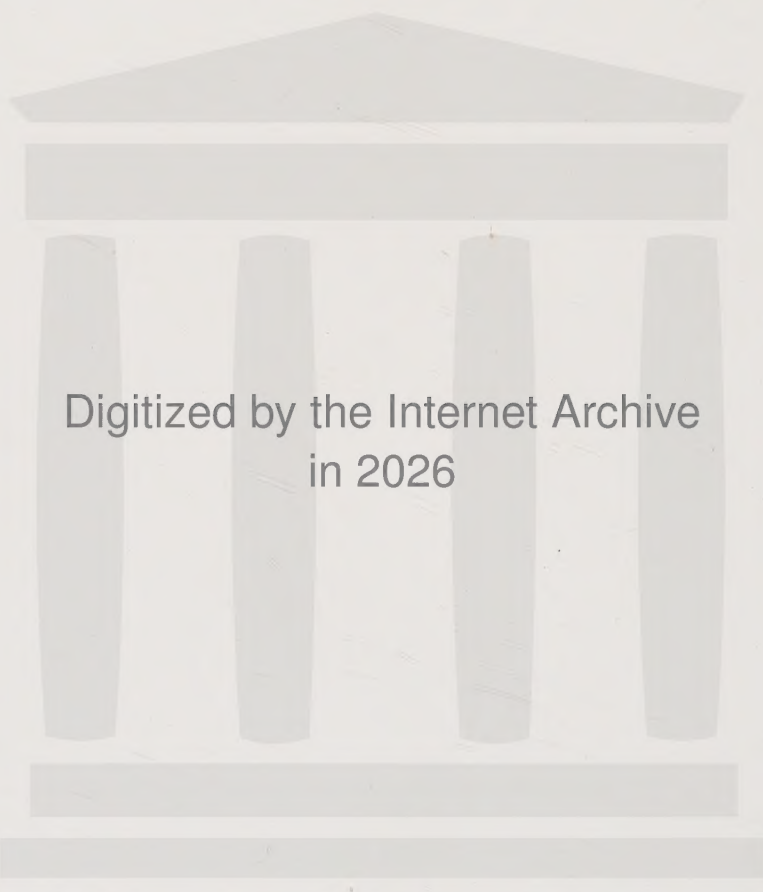


LYON

IMPRIMERIE P. MOREL
26, Bd des Brotteaux

1939





Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année Scolaire 1938-1939 No 238

TRAVAIL DE LA CLINIQUE MÉDICALE INFANTILE

Professeur MOURIQUAND

Applications nouvelles de la Percuti-Réaction

Mise au point d'une tuberculine spéciale
pour percuti-réaction.

Percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée.

Dépistage des Brucelloses par percuti-réaction.

THÈSE

PRÉSENTÉE

à la FACULTÉ de MÉDECINE et de PHARMACIE de LYON

et soutenue publiquement le 12 Juillet 1939

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Charles MÉRIEUX

Ancien Elève de l'Institut Pasteur

Diplômé de Sérologie et de Bactériologie

Né le 9 Janvier 1907, à Lyon.



LYON

IMPRIMERIE P. MOREL

26, Bd des Brotteaux

1939

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire	M. L. HUGOUNENQ.
Doyen	M. J. LEPINE.
Assesseur	M. A. MOREL.

Professeurs honoraires

MM. LANNOIS, HUGOUNENQ,
BARRAL, ROLLET, PIC, CONDAMIN.

Professeurs

Cliniques médicales	MM.	FROMENT.
Cliniques chirurgicales		SAVY.
		PATEL.
		BERARD.
Clinique obstétricale et Accouchements		VORON.
Clinique ophtalmologique		BONNET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques		FAVRE.
Clinique neurologique et psychiatrique		LEPINE (J.).
Clinique des maladies des enfants		MOURIQUAND.
Clinique des maladies des femmes		COTTE
Clinique d'oto-rhino-laryngologie		REBATTU.
Clinique des maladies des voies urinaires		CIBERT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie		TAVERNIER.
Clinique et prophylaxie de la tuberculose		COURMONT.
Clinique des Maladies Infectieuses		CHALIER (J).
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie		PONTHUS.
Chimie biologique et médicale		FLORENCE.
Chimie organique et Toxicologie		MOREL.
Matière médicale et Botanique		MANCEAU.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale		GUIART.
Anatomie		LATARJET.
Histologie		POLICARD.
Physiologie		HERMANN.
Pathologie interne		CORDIER.
Pathologie générale et thérapeutique		CADE.
Anatomie pathologique		MARTIN (J. F.)
Chirurgie opératoire		SANTY.
Médecine expérimentale et comparée et bactériologie		ARLOING (F.).
Médecine légale		Etienne MARTIN.
Hygiène		ROCHAIX.
Pharmacie et Pharmacologie		LEULIER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie		PIERY.

Professeurs titulaires sans chaire

Chargé d'un cours d'Anatomie médico-chirurgicale	MM.	THEVENOT (Léon)
Chargé d'un cours d'Embryologie		NOEL.

Agrégés

MM.
GABRIELLE.
DECHAUME.
BERNHEIM.
POLLOSSON.
CHAMBON.

MM.
EPARVIER.
GUILLEMINET.
MORENAS.
REVOL.
ENSELME.

MM.
SEDALLIAN.
CREYSEL.
DE ROUGEMONT.
RAVAULT (P.).
PIGEAUD.
CROIZAT.

MM.
DELORE.
JOSSERAND.
MORIN.
BERTRAND.
CLAVEL.
LEVRAT.



EXAMINATEURS DE LA THESE

MM. MOURIQUAND, *président* ; ARLOING, *assesseur* ;
DUFOUT et BERNHEIM, *agrégés*.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Ancien assistant du Docteur Roux à l'Institut Pasteur

A LA MEMOIRE DE MON FRERE JEAN

Licencié ès-sciences

Etudiant en pharmacie

A MA FEMME

Cette étude est dédiée.

A MA MERE

A MES ENFANTS

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MOURIQUAND

C'est à lui seul que nous devons la confiance qui nous a été accordée par le corps médical pour l'expérimentation d'une tuberculine nouvelle.

Très récemment, en Finlande, en U. R. S. S. et en Pologne, son nom seul nous a valu dans les hôpitaux de ces pays l'accueil le plus aimable.

Qu'il trouve ici l'expression de notre respectueuse admiration.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ARLOING

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ DUFOURT

Ils ont été nos premiers maîtres dans l'enseignement de la bactériologie.

Nous les prions de croire à notre respectueuse reconnaissance pour avoir bien voulu accepter de faire partie de notre jury de thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ BERNHEIM

Il a bien voulu nous accorder sa confiance en nous facilitant l'expérimentation d'une technique nouvelle pour la mise en évidence de l'immunité anti-diphtérique.

Nous nous souviendrons toujours des grandes joies que les premiers résultats nous ont données dans son service du Perron où règne le plus sympathique accueil.

Ses conseils et sa bienveillance nous ont été particulièrement précieux pour la rédaction de cette thèse.

Nous sommes donc très heureux de le remercier et de lui donner l'assurance de notre très profond et très respectueux attachement.

A MONSIEUR LE DOCTEUR PAUL BERTOYE

Médecin des Hôpitaux

Il a réhabilité en France la percution de Moro-Hamburger ; c'est grâce à lui que nous nous sommes intéressés à cette technique si séduisante.

Nous le prions de trouver ici l'assurance de notre entière gratitude.

A MONSIEUR LE DOCTEUR JULLIEN

En témoignage de notre reconnaissance pour l'aide qu'il nous a apportée par sa parfaite connaissance des brucelloses et l'organisation de son centre d'études à Joyeuse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR HAMBURGER

Sur la recommandation du Docteur Bertoye, nous avons pu nous initier à la percuti-réaction de Moro-Hamburger dans le service même de l'illustre professeur autrichien.

Nous le prions de croire à notre respectueuse considération ainsi que tous ceux qui nous ont reçu si aimablement à Vienne.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FINZI

Ses travaux ont magnifiquement mis en évidence les avantages des tuberculines formolées.

Dans son laboratoire de Milan, il nous a réservé l'accueil le plus sympathique.

Nous l'en remercions et le prions de trouver ici l'assurance de notre respectueuse gratitude.

En même temps que ces deux savants étrangers, nous voudrions également remercier tous ceux qui nous ont si bien accueilli au cours d'une série de voyages d'études en Europe.

Les découvertes immortelles de Pasteur ont fait naître dans le monde entier d'innombrables laboratoires et partout il y règne la même foi et le même enthousiasme.

C'est pour un bactériologiste trop souvent isolé dans son travail un vivifiant et indispensable contact s'il veut échapper à la routine.

A NOS MAITRES DANS LES HOPITAUX :

MONSIEUR LE PROFESSEUR BONNET

MONSIEUR LE PROFESSEUR COLLET

MONSIEUR LE PROFESSEUR COURMONT

MONSIEUR LE PROFESSEUR GAYET

MONSIEUR LE PROFESSEUR LEPINE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MOURIQUAND

MONSIEUR LE PROFESSEUR NICOLAS

MONSIEUR LE PROFESSEUR NOVE-JOSSERAND

MONSIEUR LE PROFESSEUR PAVIOT

MONSIEUR LE PROFESSEUR SAVY

MONSIEUR LE PROFESSEUR TIXIER

MONSIEUR LE PROFESSEUR VORON

A NOS MAITRES DE L'INSTITUT PASTEUR

Dans cette illustre maison où mon père vécut l'épopée pasteurienne, j'ai passé en 1932, une année qui aura eu sur mon orientation la plus complète influence.

C'est M. Roux qui nous y accueillit avec tant de bonté malgré ce terrible regard tant redouté de tous les travailleurs de l'I. P.

Nous n'oublierons jamais avec quelle paternelle sollicitude M. Calmette nous fit visiter ses nouveaux et splendides laboratoires; c'est lui et M. Roux qui nous convinrent de faire notre médecine.

Dans le laboratoire de M. Dumas, les travaux pratiques ne manquaient pas d'animation et l'enthousiasme régnait dans les cours où MM. Calmette et Ramon précisaient leurs découvertes alors récentes du B. C. G. et des anatoxines.

Le nom du Docteur Louis Martin est inséparable de la diphtérie pour laquelle nous nous sommes efforcés de mettre au point un test d'immunité.

Nous voulons remercier ici particulièrement le Professeur Besredka de l'accueil qu'il a bien voulu nous faire et des conseils précieux qu'il a pu nous donner.

On ne peut d'ailleurs parler d'immunité locale ou de réactions cutanées sans y associer le nom de ce chercheur passionné.

Qu'il soit donc assuré, ainsi que tous nos maîtres de l'Institut Pasteur, de notre respectueuse admiration et de la volonté que nous apporterons toujours de concilier les exigences de notre métier avec les magnifiques exemples qu'ils nous ont donnés.

Au début de cette thèse, nous tenons à remercier les praticiens qui nous ont facilité notre expérimentation.

A côté des médecins, il serait injuste d'oublier les vétérinaires, car pour la tuberculose et les brucelloses, ce sont leurs judicieuses observations qui nous ont permis de mettre au point les réactifs de haute valeur nécessaires à la médecine humaine pour les percuti-réactions.

Au cours de la préparation de ces divers réactifs, nos collaborateurs habituels nous ont manifesté un dévouement et un enthousiasme que nous tenons à signaler.

Pour la fièvre de Malte notamment, la collaboration de Mlle Cochet, devenue maintenant l'épouse de notre collaborateur et ami, le Docteur Vétérinaire Fiancette, nous a été particulièrement précieuse. Sa participation s'est d'ailleurs concrétisée par une agglutination à 1/800^e consécutive à une contamination, trop fréquente, hélas ! chez tous ceux qui travaillent avec les *Brucella*.

Dans la préparation de la tuberculine et celle si aléatoire de la toxine diphtérique, Ch. Cartal fut un auxiliaire précieux et nous sommes heureux de lui manifester ici notre gratitude ainsi qu'à celles qui nous ont facilité la rédaction matérielle de ces pages.

INTRODUCTION

« Ceux auxquels nous devons rendre compte de nos
« travaux, la société, ne nous demandent pas tant de
« tracer des aperçus généraux que de trouver quelque
« chose qui soit pratique pour le diagnostic, la préven-
« tion et le traitement des maladies. »

Charles NICOLLE.

La pensée du savant Ch. Nicolle qui illustre le début de cette thèse résume pour moi l'exemple que fut la vie de mon père.

Aux côtés de Roux et de Calmette il fit partie de la grande équipe pasteurienne, mais à la gloire des laboratoires officiels il préféra exercer en honnête homme cette profession nouvelle : la bactériologie.

Il fut sans doute l'un des premiers à préparer la classique tuberculine de Koch et passionné avant tout de réalisations pratiques il aurait vu avec plaisir consacrer la valeur d'une méthode aussi pratique que la percuti-réaction.

C'est le Docteur Bertoye, au retour d'un voyage à Vienne qui nous fit connaître l'épreuve de Moro-Hambürger, simple friction de la tuberculine sur la peau.

Je pus me rendre compte des avantages de cette méthode dans le service même du Professeur Hambürger au cours d'un voyage d'études particulièrement profitable.

La percuti-réaction selon la technique autrichienne s'étant révélée un peu moins sensible que les procédés habituels il m'a semblé intéressant de préconiser une tuberculine spéciale en m'inspirant des travaux de mon père et du Professeur Finzi.

Alors que la médecine humaine depuis plus de 30 ans était fidèle à la classique préparation de Koch il fallait

bien toute l'audace de la jeunesse pour modifier des principes qui semblaient immuables.

Comme bien d'autres, cette tuberculine nouvelle n'aurait jamais été utilisée si notre maître le Professeur Mouriquand ne l'avait expérimentée en nous manifestant une confiance que nous n'oublierons jamais.

A la suite des communications lyonnaises mettant en évidence la valeur du procédé, une série d'études et de thèses ont réhabilité la percuti-réaction de Moro-Ham-bürger en insistant sur les avantages pratiques de la méthode.

Il était séduisant pour nous de chercher des applications nouvelles de la percuti-réaction à la prophylaxie d'autres maladies que la tuberculose.

En contact journalier avec des médecins et des vétérinaires, nous étions frappé de l'extension sans cesse croissante des brucelloses ou fièvres de Malte et de la nécessité d'une technique pratique de dépistage.

Pour le diagnostic de cette affection par les praticiens eux-mêmes nous avons proposé une méthode de percuti-réaction dont les premiers essais sont véritablement encourageants.

Mais c'est une troisième application de l'épreuve percutanée que nous avons entreprise avec le plus d'enthousiasme.

A notre époque de vaccination anti-diphtérique obligatoire et de sérothérapie à doses massives, il serait très important de disposer d'un test pratique pour la mise en évidence de l'immunité anti-diphtérique.

Le Professeur agrégé Bernheim, a bien voulu nous aider dans cette voie nouvelle et une première statisti-

que permet de penser qu'un jour la percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée se substituera à la classique épreuve intra-dermique de Schick.

La mise au point de techniques nouvelles pour le dépistage des brucelloses et la recherche de l'immunité anti-diphtérique, pose des problèmes nombreux nécessitant des recherches bibliographiques très approfondies et une expérimentation très longue.

Des circonstances indépendantes de notre volonté nous ont contraint d'accélérer la rédaction de ce travail et semblent confirmer qu'à notre époque où le dynamisme est roi, il est bien difficile de pouvoir se consacrer à un travail suivi !

A tout prendre, il est sans doute préférable qu'il en soit ainsi, car c'est aux cliniciens et non aux gens de laboratoire qu'il importe d'interpréter les méthodes biologiques ; pour employer une pompeuse périphrase, le médecin est en effet seul à même de pouvoir superposer le syndrome clinique au syndrome biologique.

L'histoire de la tuberculine est d'ailleurs édifiante ; les bactériologistes avec leur terrible enthousiasme avaient complètement détruit la confiance des cliniciens et ce sont ces derniers qui ont remis en honneur la pratique des réactions cutanées.

Nous voulons donc espérer que dans la prophylaxie des brucelloses et de la diphtérie la percuti-réaction rendra des services analogues à ceux qu'on lui reconnaît dans la tuberculose.

En tout cas, la mise au point de ces divers réactifs aura été pour nous la source de bien grandes joies.

Certains sans doute ne verront dans la percuti-réac-

tion que la préparation de pommades plus ou moins commerciales et il est certain que la fabrication des divers antigènes microbiens a maints côtés culinaires un peu déroutants pour le profane.

Mais pour l'homme de laboratoire, les constatations qu'il a pu faire dans son étuve ou dans l'expérimentation sur cobayes sont autant de manifestations d'enthousiasme.

Cependant, les premiers essais pratiques constituent le stade le plus intéressant dans la mise au point d'un réactif.

Après plusieurs échecs nous nous souviendrons toujours de notre joie en constatant la première percuti-réaction positive sur un sujet atteint de fièvre de Malte.

Dans la diphtérie, bien des visites dans cet accueillant service du Perron avaient été infructueuses avant de constater enfin les premiers résultats.

Aussi ce que nous avons trouvé de plus magnifique au cours de ces recherches, c'est la confiance que des cliniciens comme le Professeur Mouriquand et le Professeur-agrégé Bernheim ont bien voulu faire à un bactériologiste chez qui la jeunesse et l'enthousiasme remplaçaient l'expérience et la science.

Généralités sur la Percuti-Réaction

HISTORIQUE

La percuti-réaction, pour laquelle nous avons cherché de nouvelles applications, a été étudiée comme épreuve tuberculinique.

LIGNIÈRES conseilla de frictionner la peau avec la tuberculine brute (1907).

MORO utilisa pour cet usage une pommade à base de lanoline et de tuberculine (1908).

HAMBURGER enfin perfectionna cette technique par l'extrême concentration du réactif.

REACTIF

Technique essentiellement superficielle, la percuti-réaction nécessite l'emploi d'un *réactif de haute valeur antigénique* préparé avec des souches microbiennes sélectionnées.

Pour faciliter la percuti-réaction, il est essentiel de disposer d'un *réactif à l'état pâteux*, mais cet aspect doit seulement être dû à son extrême concentration en milieu glycéринé sans addition d'aucun excipient, lanoline ou autre, qui diminuerait d'autant sa valeur diagnostique.

REACTION

La percuti-réaction est une méthode *d'exécution simple* puisque après décapage de la peau, il suffit de la frictionner avec le réactif approprié.

Cette méthode qui ne nécessite ni seringue, ni aiguille, ni scarificateur est particulièrement bien acceptée par tous les sujets, même les très jeunes enfants.

Il est recommandé de la pratiquer sur la région sternale où le plan osseux sous-jacent facilite la percuti-réaction par le point d'appui qu'il lui donne.

Le principal avantage de la percuti-réaction est son *extrême facilité d'interprétation*.

Les réactions positives se manifestent dans les 2 à 4 jours qui suivent par une éruption absolument caractéristique, alors que les réactions négatives laissent la peau sans changement.

L'usage de la percuti-réaction surtout lorsqu'on peut employer les réactifs préparés sur milieu synthétique, permet de rayer de la terminologie médicale les réactions douteuses dont l'interprétation difficile a nui à la vulgarisation de tant de techniques.

Reproductions photographiques en grandeur naturelle de percuti- réactions effectuées à la Tuberculine

FIG. 1. — Percuti-réaction assez peu intense, démontrant une allergie peu marquée (début de la primo-infection ou contamination ancienne).

FIG. 2. — Type d'une allergie intense.

C'est grâce à l'obligeance du Docteur Martinon que la reproduction photographique de ces percuti-réactions a pu être menée à bien.

Nous sommes heureux de remercier ici Mme Géo Royer, du Laboratoire d'Anatomie pathologique de la Faculté qui a effectué le moulage et l'aquarelle nécessités par le faible relief des éléments.

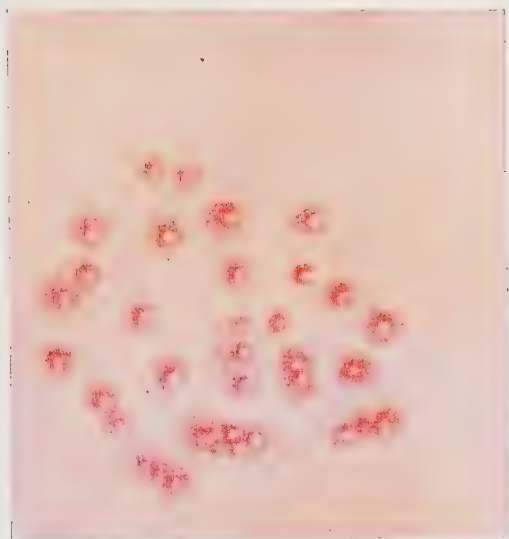


FIG. 1

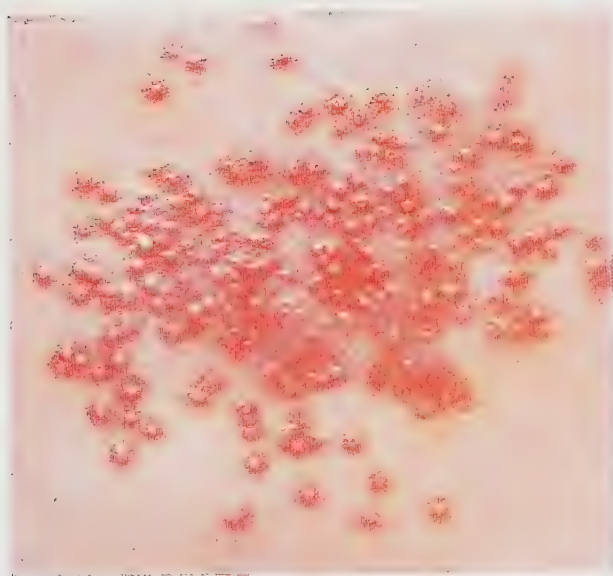


FIG. 2

CHAPITRE PREMIER

MISE AU POINT D'UNE TUBERCULINE SPECIALE POUR PERCUTI-REACTION

On connaît les très grands services que les réactions cutanées à la tuberculine peuvent rendre dans la prophylaxie de la tuberculose.

Quatre ans d'expérimentation ont démontré les avantages et la valeur de la percuti-réaction effectuée avec une nouvelle tuberculine.

I. — IDENTIFICATION DE LA PRIMO-INFECTION TUBERCULEUSE

Dans la tuberculose, l'efficacité d'une thérapeutique dépend avant tout de la précocité de son intervention. Il est donc primordial de pouvoir déceler le plus tôt possible la primo-infection, ce premier contact du bacille de Koch avec l'organisme.

1° *La mise en évidence du bacille de Koch est exceptionnelle*

Malgré les progrès des techniques de recherche et ceux des méthodes de prélèvement, la mise en évidence du bacille de Koch est le plus souvent impossible au cours des primo-infections.

Nous avons cru utile cependant de rappeler brièvement les dernières acquisitions de la bactériologie dans ce domaine car la mise en évidence de l'agent causal constitue la preuve irréfutable d'une affection.

Au cours de 40 années de bactériologie, Marcel Mérieux n'avait pas cessé de contribuer au progrès de cette science et nous avons pu ainsi bénéficier de son expérience.

a) *Perfectionnement des techniques de recherche.*

L'examen direct, après la classique coloration de Ziehl, peut permettre de déceler le bacille de Koch.

Il semble qu'on ait trop exagéré les confusions possibles avec les bacilles acido ou alcoolo-résistants, du moins si on emploie la technique de coloration mise au point par Kuhn.

Cette méthode consiste à fixer le colorant de Ziehl par une solution de chlorhydrate d'aniline avant la seule décoloration à l'alcool.

Nous insistons un peu sur ce procédé de coloration car c'est M. Mérieux qui l'a introduit en France bien que la terminologie des laboratoires lui ait donné un autre nom.

En consultant une statistique qui s'étend sur près de 40 ans, nous avons pu constater que l'emploi de cette méthode donnait à un examen direct une certitude quasi absolue puisque l'inoculation au cobaye le confirme dans l'immense majorité des cas.

L'inoculation au cobaye reste d'ailleurs un magnifique moyen pour la mise en évidence du bacille de Koch.

Selon l'expérience de M. Calmette, il suffit de deux bacilles pour tuberculiser cet animal !

La pratique des réactions tuberculiniques chez le cobaye permet avant l'inoculation d'éliminer les cas exceptionnels de tuberculose spontanée et peut en cours d'épreuve, dans certains cas, hâter ce diagnostic expérimental.

Depuis les travaux de Lœwenstein la *culture* du bacille de Koch qui devait déjà tant à Pétrof et à Besredka, a repris une vogue nouvelle.

Il est certain que le milieu de Lœwenstein, surtout tel qu'il a été modifié par Pétragnani, réalise un très grand progrès pour la culture de ces germes.

Certains prélèvements, tels que les crachats, étant presque toujours souillés par des microbes secondaires, il est conseillé avant l'ensemencement de les traiter par l'acide sulfurique ou par la soude de façon à détruire ces impuretés tout en respectant le bacille de Koch qui doit une résistance particulière à sa carapace ciro-graisseuse.

Pour avoir effectué personnellement des centaines d'ensemencements selon la technique que nous avons vu pratiquer dans le laboratoire même du Professeur Lœwenstein nous pouvons dire que ces méthodes de traitement sont assez délicates.

Il est assez difficile de supprimer les microbes secondaires sans atténuer considérablement la vitalité du bacille de Koch. Aussi est-il toujours préférable d'ensemencer directement le prélèvement lorsqu'il est recueilli à l'état de pureté.

C'est très souvent le cas des urines ou des liquides de ponction. On obtient alors en quelques semaines de très belles cultures si l'on prend soin d'utiliser un milieu soigneusement et récemment préparé sans oublier de mettre la culture à l'abri de l'air en paraffinant l'extrémité des tubes.

Dans leur belle monographie sur le diagnostic bactériologique de la tuberculose, Saenz et Costil ont particulièrement bien étudié cette question (1).

Ils ont notamment comparé la sensibilité des milieux de cultures et l'inoculation au cobaye.

Ce petit animal s'est révélé plus réceptif que la culture puisque un animal sur quatre est tuberculisé par deux bacilles alors qu'à cette dilution la culture reste stérile.

Cette expérimentation confirme donc les données de Calmette et celles que nous avons toujours entendu soutenir.

Il n'en reste pas moins que la culture du bacille de Koch sur milieu spécial, est un utile moyen de contrôle de l'inoculation au cobaye et qu'elle est indispensable aux épidémiologistes pour étudier l'origine bovine, aviaire ou humaine des souches recueillies.

b) Amélioration des méthodes de prélèvements.

Ainsi donc depuis les premières années de la bactériologie, les techniciens n'ont pu trouver un procédé plus sensible que la classique inoculation au cobaye.

Dans le domaine des méthodes de prélèvements des progrès plus nets ont été accomplis.

Tout d'abord *l'homogénéisation* par des moyens divers permet de concentrer le prélèvement à examiner et facilite les recherches.

M. Mérieux, considérait ces techniques d'enrichissements comme des procédés paresseux supprimant l'avantage des constatations inhérentes à l'examen cytologique et il est un fait que nous ne nous souvenons pas avoir trouvé après homogénéisation les germes qui avaient échappé à son seul mais minutieux examen direct.

L'hémoculture, selon la technique de Lœwenstein, révolutionna un certain temps la presse médicale internationale (2).

Le savant autrichien, ensemençant sur son milieu spécial et selon sa technique personnelle d'innombrables échantillons de sang prétendait trouver un pourcentage considérable de résultats positifs, notamment au cours des primo-infections.

Avec leur enthousiasme habituel, les bactériologistes du monde entier s'efforcèrent, mais en vain, de reproduire les statistiques de Løwenstein.

Des recherches particulièrement intéressantes furent poursuivies à l'Institut Pasteur par Saenz, et à l'Institut Bactériologique de Lyon par P. Courmont.

Une expérimentation officielle (3) ne parvint pas à expliquer le mystère des discordances entre l'Institut d'Etat à Vienne et les autres laboratoires étrangers.

L'hémoculture du bacille de Koch, très rarement positive, n'est donc pas rentrée dans la pratique, mais les travaux de Løwenstein ont du moins contribué à la mise au point d'un remarquable milieu de culture.

Le *lavage d'estomac* en vue de la recherche par inoculation du bacille de Koch peut souvent fournir la preuve d'une primo-infection.

Ce procédé est particulièrement utile pour les enfants chez qui on se prive des services de la bactériologie parce qu'ils n'expectorent pas.

Dès 1898, H. Meunier, puis Bertherand dans sa thèse indiquait sa possibilité. Nobécourt, Paraf la signalent en 1920, mais c'est en 1927 que Armand-Delille et J. Vibert en perfectionnent la technique (4).

Les travaux danois de Poulsen et Jensen (5) et de nombreuses autres études ont définitivement consacré cette

méthode d'ailleurs utilisée depuis plusieurs années comme procédé d'usage courant à Lyon par MM. Dufourt et Fabre (6).

La technique est simple puisqu'il suffit au moyen d'un tube d'Einhorn de laver l'estomac avec 100 cc. d'eau bouillie, ce prélèvement devant être utilisé au laboratoire pour l'examen direct, les cultures et surtout l'inoculation.

Dans le cas de foyer tuberculeux initial ou secondaire, alors que tous les autres examens sont négatifs, les inoculations faites avec le contenu gastrique permettent fréquemment de déceler le bacille de Koch (A. Dufourt).

Zeyland est même parvenu à découvrir le bacille de Koch avant le virage des réactions tuberculiniques (7).

Lesné, Mlle Dreyfus-Sée, Saenz ont insisté sur le fait que la proportion des enfants à résultat positif était d'autant plus importante qu'ils étaient plus jeunes (8).

Dans sa thèse, Mme Martin, expose les résultats de 104 lavages d'estomac dont un certain nombre ont été effectués par nos soins (9).

Le lavage d'estomac n'a jamais décelé de bacilles à Koch chez les enfants à réaction tuberculinique négative et chez ceux qui avaient des réactions positives, mais dont la primo-infection était ancienne.

Dans les tuberculoses pulmonaires fibro-caséeuses, les granulies et les méningites, l'inoculation du liquide gastrique a presque toujours montré l'existence du bacille.

Dans les primo-infections, la proportion des résultats positifs a été importante puisqu'elle a atteint 56,25 % des cas.

En conclusion, pour le dépistage bactériologique précoce de la tuberculose chez l'enfant, l'inoculation au co-

baye des mucosités gastriques est un procédé très sûr, mais il est évident que cette technique ne peut être généralisée dans les collectivités et nous venons de voir que les résultats en sont malgré tout inconstants.

2° Recherche indirecte du bacille de Koch

Puisque la mise en évidence du germe lui-même nécessite des techniques délicates trop souvent défectueuses, les bactériologistes ont cherché des procédés indirects pour caractériser la présence du germe.

a) Méthodes sérologiques.

La séro-agglutination d'Arloing et Courmont, la méthode de déviation du complément due à Besredka et la réaction de Vernes à la résorcine, sont bien connues de tous les médecins.

Ce sont des méthodes bien au point, mais leurs auteurs eux-mêmes reconnaissent que les résultats positifs n'ont pas la valeur absolue de la mise en évidence du bacille de Koch.

Par ailleurs, ces techniques nécessitent un prélèvement de sang et le recours au laboratoire, formalités impraticables lorsqu'il faut envisager un dépistage systématique.

Il était néanmoins utile de citer ces méthodes puisque dans certains cas elles auraient donné des résultats positifs (séro-diagnostic d'Arloing et Courmont), dans la primo-infection alors que les réactions tuberculiques étaient encore négatives (P. Courmont).

b) *Réactions tuberculiques.*

La complexité et les défaillances des recherches bactériologiques, le manque de spécificité des réactions sérologiques qui nécessitent néanmoins le recours au laboratoire s'opposent donc à l'emploi systématique de ces diverses techniques.

La nécessité pour les cliniciens de disposer d'un test pratique pour le dépistage de la primo-infection tuberculeuse, les a amenés à généraliser l'emploi des réactions cutanées à la tuberculine dont la technique et l'interprétation ont été admirablement étudiées.

II. — TUBERCULINES ET REACTIONS CUTANÉES

Le 4 août 1890, au Congrès international de Berlin, Robert Koch annonçait qu'il avait trouvé « le remède spécifique de la tuberculose ».

Martinon rappelle que « la découverte provoqua un prodigieux enthousiasme parmi les médecins et les malades de tous les pays bien que le remède, appelé tout d'abord « lymphé » par Robert Koch, puis plus tard « tuberculine », resta fort mystérieux ».

« En effet, pendant plusieurs mois le savant fut empêché d'en dévoiler la nature, par le Conseil central de médecine. Le nouveau remède devait être propriété d'Etat et vendu au profit du Trésor ».

Au début de 1891, Robert Koch put enfin faire connaître le mode de préparation de son produit, mais l'enthousiasme du début avait considérablement baissé, car on s'était aperçu qu'il était particulièrement dangereux d'utiliser chez les tuberculeux la lymphé de Koch.

Très vite cependant, on constata que l'injection sous-cutanée de tuberculine provoquait une réaction chez les tuberculeux et qu'on pouvait en tenir compte pour le diagnostic de la tuberculose.

Après maintes discussions, la tuberculine en applications cutanées a définitivement pris sa place de réactif diagnostique dans la prophylaxie de la tuberculose.

1° *Divers modes de préparation des tuberculines.*

Il est coutume de dire qu'il n'y a pas une tuberculine, mais des tuberculines.

C'est cependant « la vieille tuberculine de Koch » qui est universellement employée sous sa forme classique : Concentration au 1/10^e de vieilles cultures de bacilles de Koch, filtrées et stérilisées par la chaleur.

Des bactériologistes ne se sont pas fait faute cependant de proposer maintes modifications, mais l'enquête effectuée récemment par le service de la Société des Nations auprès des divers laboratoires du monde entier, a montré que la grande majorité des instituts s'en tenaient à la préparation classique.

Il est cependant utile de passer rapidement en revue les divers temps de la préparation.

a) *Races de bacilles utilisées.*

En règle générale la plupart des laboratoires associent aux souches humaines des souches bovines, qu'il s'agisse de tuberculines destinées à l'usage humain ou à l'usage vétérinaire.

On procède ainsi à l'Institut Pasteur, et c'est la règle que nous avons également suivie : nous employons, en effet, deux souches d'origine humaine et deux souches d'origine bovine.

b) *Composition du milieu de culture.*

Pour assurer la vitalité des microbes tout en conservant leur virulence, la préparation des milieux de cultures joue un rôle extrêmement important. Il nous semble cependant inutile de rentrer dans tous les détails de leur préparation.

Nous signalerons seulement plus loin l'importance qu'il y a à substituer au bouillon de viande habituel des milieux synthétiques qui évitent les pseudo-réactions lors des épreuves tuberculiniques.

Le milieu synthétique de Santon (a) est le plus connu. C'est celui que nous utilisons mais il faut signaler également ceux de Long et de Dorset.

c) *Température de l'étuve. Age des cultures.*

La température de l'étuve doit être réglée très exactement à 38°, car Finzi a remarqué que le séjour à 41°5 supprimait la valeur diagnostique du réactif.

Les cultures doivent être vieilles et selon les instituts elles séjournent à l'étuve 4 ou 8 semaines. Personnellement, nous les y laissons 7 semaines environ.

Il est surtout important que les cultures soient belles. On conçoit, en effet, que la quantité de tuberculine sécrétée par les microbes est fonction de la richesse des cultures en éléments microbiens. Si depuis 40 ans les médecins et les vétérinaires font confiance à notre tuberculine, c'est que depuis cette date tous les 10 jours sans exception de nouveaux ballons sont ensemencés avec des voiles microbiens judicieusement choisis.

(a) La composition de ce milieu est la suivante : asparagine 4 grs, acide citrique 2 grs, phosphate bipotassique 0 gr. 50, sulfate de magnésie 0 gr. 50, citrate de fer 0 gr. 05, glycérine 50 cc.

d) *Stérilisation.*

Dans la préparation classique de Koch, la stérilisation est obtenue par la chaleur. On utilise généralement l'autoclave où l'on maintient les cultures pendant une heure à une température de 100°.

Nous verrons plus loin les avantages qu'il y a à utiliser le formol et surtout à combiner l'action du formol et de la chaleur comme l'a réalisé M. Mérieux en s'inspirant des travaux de Finzi et de Boquet.

On doit bien avouer, en effet, qu'on ne sait pas encore très exactement quels sont les principes actifs de la tuberculine et l'on comprend l'intérêt qu'il y a à combiner l'action d'un antiseptique et d'un chauffage modéré afin d'obtenir une tuberculine « totale » selon le terme de M. Mérieux.

e) *Filtration, contraction, purification.*

Après stérilisation, la tuberculine classique de Koch est concentrée au 1/10^e par un séjour prolongé au bain-marie.

Après filtration sur papier Chardin, on obtient un liquide sirupeux d'odeur agréable (pour un bactériologiste) dont la conservation est assurée par l'importante proportion de glycérine contenue dans le réactif.

La purification des tuberculines est actuellement fort à la mode, mais selon l'avis des expérimentateurs eux-mêmes elle est surtout indiquée dans la pratique de l'intra-dermo-réaction.

Nous citerons seulement la méthode de purification par l'acide phosphotungstique en présence d'acide sulfuri-

que dont la valeur a été récemment démontrée à l'Institut Pasteur par Boquet et Sandor.

2° *Les principaux tests tuberculiniques.*

Dans sa très belle thèse, Jean Martinon (10) a fait un historique particulièrement complet des diverses utilisations de la tuberculine considérée en tant que réactif diagnostique.

En médecine humaine, ce sont les travaux de Von Pirquet en 1907 (11) qui ont rendu la méthode pratique et Vallée (12) en relatant une première communication sur ce sujet, proposa le nom de « cuti-réaction ». Puis ce fut l'ophtalmo-réaction de Calmette maintenant abandonnée.

La percuti-réaction devait naître avec les recherches de Lignières (13) qui frictionnait à la tuberculine brute la peau rasée au préalable.

Moro (14) en 1908, remplace la tuberculine brute par une pommade à base de tuberculine et de lanoline, mais sa technique, moins sensible que la cuti-réaction habituelle, est peu utilisée, jusqu'au jour où Hambürger (15) remet en valeur l'épreuve percutanée par l'emploi, non plus d'une pommade mais bien d'une tuberculine extrêmement concentrée jusqu'à l'obtention de l'état pâteux.

Dans le même ordre d'idées, Lautier (16), applique sur la peau un tampon de gaze imbibé de tuberculine ; Kfourri (17), propose un crayon tuberculinique à base de tuberculine concentrée et de beurre de cacao ; J.-B. Priente (18) utilise un carré de papier buvard ; Grozin un emplâtre adhésif (19).

« On n'hésite pas à mettre à contribution les muqueuses : c'est la rhinoréaction de Lafitte-Dupont et Moli-

nier (20) et la rectoréaction de Calmette (21) découvertes en 1908 ».

Puis vient l'époque de l'intra-dermo-réaction de Martoux (22) et d'une technique très voisine l'auriculoréaction de Tedeschi et Lorenzi (23).

En rappelant ces diverses épreuves et bien d'autres, Martinon cite une réflexion bien compréhensible de Bancelier et Roepke (in 24) :

« Faisons des vœux pour qu'au moins les autres muqueuses, soit celles de l'appareil digestif, soit celles de l'appareil urogénital, restent épargnées dans l'application de la tuberculine ».

Ces vœux ont été entièrement exaucés et après l'enthousiasme excessif du début du siècle, la médecine humaine se contente maintenant des trois réactions dont nous allons rappeler la technique et les avantages :

La cuti-réaction, l'intra-dermo-réaction, la percuti réaction.

a) *Cuti-réaction.*

« En 1907, Von Pirquet, au cours d'études sur la vaccination jennérienne, observe que les sujets vaccinés pour la première fois réagissent d'autre manière que les porteurs d'une vaccination antérieure. Il pense alors à rechercher, suivant la même méthode, les réactions des sujets tuberculeux.

La tuberculine, qui s'était révélée redoutable en thérapeutique se retrouve comme un précieux instrument diagnostique : une goutte de ce produit déposée sur une scarification de la peau, ne crée chez l'homme sain aucune modification locale, elle entraîne au contraire, chez le

sujet tuberculeux une manifeste réaction cutanée ».

Cette « allergie », témoin de l'infection bacillaire, peut être considérée comme un très efficace moyen de la dépister.

Tous les auteurs insistent sur la nécessité d'employer une bonne tuberculine : personnellement nous sommes mal placés pour insister sur ce sujet.

Technique d'application. — Sur la peau du bras et à l'aide d'un vaccinostyle, on trace deux scarifications longues de 3 mm. séparées par un intervalle de 2 mm. environ. Elles doivent être assez profondes et ne pas saigner.

On dépose alors une goutte de tuberculine dont la pénétration est assurée par la tension de la région scarifiée entre deux doigts de l'opérateur.

Il est recommandé de pratiquer deux scarifications témoins sur le même bras ou sur le bras opposé.

Les résultats, déjà nets au bout de 24 heures, peuvent être lus après 48 heures.

Bien que plusieurs auteurs, aient signalé certains accidents consécutifs à la cuti-réaction, les statistiques établies dans le service du Professeur Mouriquand par Mme Martin, montrent qu'ils ne doivent en rien restreindre l'emploi d'une technique aussi simple.

« Néanmoins, cette simplicité est pour partie fonction des commodités d'un service hospitalier.

« Ne s'agit-il que de scarifications, encore doit-on penser qu'on les fera admettre assez malaisément à l'enfant et à sa famille dans la clientèle extrahospitalière.

« Que dire lorsqu'elles apparaîtront destinées unique-

ment à déceler un aléatoire contagé dans les collectivités d'enfants apparemment sains.

« En outre, la lecture de cette réaction ne peut être confiée à d'autres qu'au médecin lui-même. Nouveau déplacement, nouveaux frais, difficiles aussi à faire admettre dans un but purement prophylactique ».

b) *L'intra-dermo-réaction.*

En 1908, Mantoux préconise l'injection intra-dermique de tuberculine diluée.

Ce test présente l'avantage d'avoir une valeur quantitative car il est facile de connaître et de graduer la quantité de tuberculine utilisée mais sa technique délicate en a considérablement limité la vulgarisation.

« L'intra-dermo-réaction, comme chacun le sait, et comme le terme l'indique suffisamment, suppose seringue, aiguille et, de surcroît, habileté à ne pas dépasser le derme, prudence à n'utiliser que des dilutions très étendues de tuberculine à 1/10.000 au 1/1.000, au moins pour commencer, obligation de renouveler l'opération pour atteindre des doses élevées parfois exigées. Une erreur provoquée par une injection sous-cutanée de tuberculine non diluée peut être fatale.

Il n'en reste pas moins que l'intra-dermo-réaction est actuellement la seule épreuve qui constitue un moyen de mesure de comparaison et de dépistage des cas frustes ou indécis : c'est donc une technique fort utile dans certains cas.

c) *Percuti-réaction.*

La percuti-réaction de Moro, qui utilisait une pommade à base de lanoline et de tuberculine brute, trouva peu d'enthousiasme à ses débuts car ses résultats s'avéraient inférieurs à ceux de la cuti-réaction de Von Pirquet.

Les travaux de Hambürger ont remis en valeur cette technique par l'emploi de la tuberculine classique de Koch, *six fois plus concentrée qu'à l'ordinaire.*

Par l'absence de lanoline sacrifiée à la nécessité d'une plus grande concentration, ce réactif ne justifie plus le nom de pommade et tire précisément de cette modification toute son efficacité.

Pour faciliter encore la percuti-réaction le Professeur Hambürger conseille de décaper au préalable la peau à l'aide d'un tampon de gaze imbibé d'éther ou d'alcool.

Alors que la peau reste sans changement en cas de négativité, les réactions positives se manifestent dans les 2 à 4 jours qui suivent par une éruption absolument caractéristique (fig. 1 et 2).

On conçoit tout l'intérêt d'une méthode aussi simple et on peut être étonné qu'elle soit restée si peu utilisée.

Au retour d'un voyage à Vienne, le Docteur Bertoye (25) reprit en France les expériences de Hambürger ainsi que L. Bernard (26).

A la Société médicale des Hôpitaux de Lyon en 1934, MM. Bertoye, Mérieux et Brun insistèrent sur les avantages de la méthode de Hambürger à la tuberculine de Koch concentrée, tout en déplorant une sensibilité un peu inférieure à la cuti-réaction de Von Pirquet.

III. — EXPERIMENTATION D'UNE NOUVELLE TUBERCULINE SPECIALE POUR PERCUTI-REACTION (Etude personnelle)

Lorsque le Docteur Bertoye réhabilita en France la percuti-réaction de Moro-Hambürger, nous avons contribué à la préparation de la tuberculine suivant la technique autrichienne et nous avons été frappés par deux inconvénients :

1° La concentration au bain-marie de la tuberculine classique six fois plus qu'à l'ordinaire, prolonge à l'excès un chauffage déjà nuisible.

Les travaux du Professeur Finzi (27) ont en effet montré l'intérêt qu'il y a à stériliser les cultures par le formol afin de respecter les principes actifs thermolabiles qui seraient détruits dans la classique préparation de Koch.

En s'inspirant de cette idée et d'une communication de Boquet (28) M. Mérieux avait démontré en méde-

cine vétérinaire, la parfaite spécificité et l'extrême sensibilité d'une tuberculine formolée contenant en outre les endotoxines extraites par chauffage des corps microbiens à 56° (29 et 30).

2° Le deuxième inconvénient du réactif était de réduire encore le volume du bouillon de cultures riche en protéines et peptones susceptibles de provoquer de fausses réactions tuberculiniques.

Pour la cuti-réaction divers auteurs ont montré cet inconvénient et très récemment le Professeur Mouriquand et Jean Martinon ont remarqué qu'il en était de même pour la percuti-réaction.

Nous avons fourni à Martinon un bouillon de viande concentré sur lequel n'avait étéensemencé aucun bacille de Koch et cependant, chez les tuberculeux, ce pseudo-réactif provoquait des manifestations cutanées susceptibles d'être mal interprétées.

Des essais ultérieurs ont montré qu'un milieu synthétique tel que celui de Sauton n'exposait pas à ces inconvénients : on voit donc l'avantage d'utiliser pour la préparation des tuberculines un tel milieu de culture.

Pour augmenter la sensibilité du réactif et pour éviter les pseudo-réactions, nous avons donc proposé pour la percuti-réaction la tuberculine « totale » expérimentée par M. Mérieux, préparée sur milieu synthétique et concentrée au 1/60^e de son volume initial.

A la suite des travaux qui en ont sanctionné la valeur, nous avons récemment publié (31) dans tous ses détails, la préparation de notre réactif (néotuberculine). (a).

1° Préparation et titrage d'une nouvelle tuberculine spéciale pour percuti-réaction

Cultures. — On utilise 4 souches de bacilles de Koch, 2 du type bovin, 2 du type humain. Les cultures de 6 semaines sont obtenues sur milieu synthétique de Sauton.

Stérilisation. — Après 6 semaines d'étuves, la partie liquide de chaque ballon est siphonnée aseptiquement, puis formolée à raison de 3 cc. par litre, selon la technique de Finzi.

Les corps microbiens et une certaine quantité de liquide restant au fond du ballon sont tyndallisés pendant 8 heures à 56°, leurs filtrats devant être mélangés avec la première partie formolée.

Après filtration sur appareil Seitz, l'innocuité de la tuberculine est contrôlée par inoculation aux cobayes sains et ensemencements sur milieux de Lœwenstein-Pétra-gnani.

Cette tuberculine renferme donc, non seulement les principes actifs de l'ancienne tuberculine de Koch, mais conserve aussi les propriétés thermolabiles.

(a) La dénomination de « néotuberculine » (par opposition à la « vieille tuberculine » de Koch) a été préférée à celle d'anatuberculine totale, proposée en médecine vétérinaire par M. Mérieux.

Le préfixe « ana » par confusion avec les anatoxines, pouvait éveiller l'idée d'un vaccin, comme le fit remarquer M. Mouriquand à la Société Médicale des Hôpitaux.

Titrage. — On sait qu'il n'existe pas de procédé rigoureux pour titrer les tuberculines et longtemps on s'est contenté de constater la toxicité de ces extraits : A ce point de vue, notre tuberculine concentrée tue en 18 heures le cobaye tuberculeux d'un poids de 300 gr., à des doses inférieures à 0,02 cc.

Selon la technique de Heath, nous utilisons la méthode de déviation du complément pour contrôler la constance antigénique de nos souches ; nous avons pu obtenir sur un bovin un sérum peu actif, mais suffisant pour effectuer ces réactions.

Le véritable titrage de la valeur d'une tuberculine doit, à notre avis, s'effectuer par la pratique d'un très grand nombre de réactions obtenues « in vivo » comparative-ment avec une tuberculine de valeur connue.

Concentration. — Pour la percuti-réaction, cette tuberculine est concentrée de façon à diminuer environ 60 fois son volume initial, elle est donc six fois plus concentrée que la tuberculine classique et sa conservation devient ainsi très longue (a).

Bien entendu, cette concentration est obtenue à une température qui ne dépasse pas 37° à l'aide d'un appareil spécial.

2° Technique de la percuti-réaction

Voici quelle est la technique de percuti-réaction telle qu'elle est réalisée à Lyon dans le service du Professeur Mouriquand (b).

(a) La conservation de la néotuberculine est certainement supérieure à trois ans.

(b) Technique publiée dans la thèse de Mme Martin.

« L'opération est réalisée de la façon suivante : La peau de la région sternale est nettoyée avec un tampon de gaze imbibé d'éther jusqu'à production d'érythème (trente secondes). Ce premier temps est essentiel, la peau doit être parfaitement décapée d'où la nécessité d'un tampon de gaze et non de coton.

« Sur la région ainsi préparée, on dépose une goutte de néotuberculine ; on provoque la pénétration par friction avec la pulpe de l'index (trente secondes).

« Pour aider à la comparaison des différentes réactions entre elles, nous utilisons un anneau de 3 centimètres de diamètre, afin de recouvrir toujours une même surface cutanée.

« Dans les heures qui suivent on veillera à ne pas baigner l'enfant. Il faut également prendre la précaution d'isoler la région sternale du contact de vêtements irritants, en particulier des vêtements de laine. En effet, l'irritation qui résulte du contact de la laine, si elle ne transforme aucunement une réaction négative, adjoint à une réaction positive un important élément d'exagération et de douleur, en même temps qu'elle retarde la cicatrisation.

« Les éruptions cutanées de toute nature opposent à la percuti une contre-indication évidente, rendant inévitable le recours à la cuti.

« Les résultats sont nets après 48 heures mais fréquemment plus tard, au 4^e, 5^e et parfois 8^e jour. Evitant l'un des inconvénients de la cuti, la réaction lorsqu'elle est négative (—) n'est associée à aucune modification de la peau. Elle ne prête à aucun doute même pour des yeux profanes.

« Positive, elle se caractérise :

— dans les réactions faibles (+) par de petites papules peu nombreuses mais toujours très visibles ;

— dans les réactions moyennes (++) par des papules plus nombreuses ;

— dans les réactions fortes (+++) les papules font place à de petites vésicules analogues à des point de folliculite.

— dans les réactions intenses (+++++) ces éléments papulo-vésiculeux sont extrêmement nombreux sur une peau enflammée et œdématiée. Parfois confluents, ils donnent l'impression d'une brûlure.

« La lecture des résultats restant possible quelques jours, peut être sans inconvénients plus tardive que pour la cuti.

« La peau se renouvelle par desquamation ; dans les réactions intenses, il subsiste parfois une pigmentation brunâtre disparaissant en 3 à 4 semaines. Nous n'avons jamais vu de lésions profondes laissant une cicatrice durable. Il n'y a jamais de retentissement focal ou général.

« En somme, ce procédé n'entraîne aucun des inconvénients précédemment signalés pour la cuti : rapide dans son exécution, il n'effraie pas les enfants ni familles, il est accepté de tous, peut être réalisé à domicile aussi bien que dans un service, aussi bien que dans toutes collectivités, les écoles par exemple. On n'avait jamais pu obtenir l'usage systématique de la cuti dans les écoles de Lyon. Depuis le printemps de 1938, la percuti-réaction y est autorisée. Elle n'a rencontré aucun obstacle, d'ordre pratique ou physiologique.

« La lecture de la percuti, ne comporte pas les causes d'erreur de la cuti ; le résultat peut être transmis au médecin par les parents ou par les infirmières. A telle enseigne que le plus simple moyen consiste à se faire envoyer le schéma de l'éruption cutanée ».

3° Expérimentation d'une tuberculine spéciale pour percuti-réaction

A la Société médicale des hôpitaux de Lyon, le 26 novembre 1935, M. le Professeur Mouriquand, en collaboration avec Mlle Weill et Mme Martin faisait la première communication concernant notre réactif (32).

Après avoir fait procéder dans son service à des essais comparatifs entre la cuti-réaction classique et la percuti-réaction pratiquée soit avec la tuberculine de Hambürger, soit avec la « néotuberculine », il conclut à la supériorité de cette dernière qui donne des résultats particulièrement faciles à interpréter.

A la suite de cette première étude, les hôpitaux de Lyon utilisèrent régulièrement pour la percuti-réaction cette néotuberculine et une expérimentation importante fut entreprise à l'hôpital Renée-Sabran à Giens sous la direction du Docteur Imbert (33).

Les résultats en furent concrétisés dans une statistique importante et P. Imbert, J. Kohler et H. Jacquis après avoir montré les avantages de la percuti-réaction, déclarent qu'ils ont abandonné la pratique de la cuti-réaction en faveur de l'épreuve percutanée.

Sur la recommandation du Professeur Mouriquand, nous avons pu ultérieurement intéresser quelques pédiâtres parisiens, notamment le Professeur Lesné, le Docteur

Weill-Hallé et Mme Dreyfus-Sée à la méthode telle qu'elle était pratiquée à Lyon.

Nous avons tenu à ce que les essais entrepris à Paris soient effectués comparativement entre la percuti-réaction, à la néotuberculine et la cuti-réaction pratiquée avec une tuberculine quasi officielle, de renommée mondiale.

Le premier travail parisien fit l'objet, en 1938, de la thèse du Docteur Chevallier : Il constate que la percuti-réaction ainsi pratiquée, est beaucoup plus sensible que la cuti-réaction et en conclut :

« Autant d'avantages qui nous permettent de penser avec notre maître le Docteur Weill-Hallé, que dans un avenir prochain la réaction percutanée de Moro-Hambürger pratiquée avec l'aide d'une tuberculine concentrée type Mérieux, remplacera la classique cuti-réaction de Von Pirquet » (34).

Quelques semaines plus tard, à la Société de Pédiatrie, Mme G. Dreyfus-Sée cite une statistique de près de 500 cas où la néotuberculine s'est révélée supérieure à divers autres réactifs utilisés soit en cuti soit en percuti-réactions (35).

Au cours de cette même séance, le Docteur Weill-Hallé vient rappeler qu'il avait quelques années auparavant conclu à la supériorité de la cuti-réaction de Von Pirquet sur la percuti-réaction, mais qu'il n'avait pas hésité à reformer ses anciennes conclusions depuis qu'il utilisait notre réactif.

En effet, sur 150 sujets, il a obtenu 93 percuti-réactions positives avec la néotuberculine et seulement 86 cuti-réactions positives avec une tuberculine de valeur incontestée.

« Sur 15 résultats divergents, 11 ont été à l'avantage de la percuti-réaction et l'on pouvait discuter la légitimité de la réaction dans les 4 cas où le Pirquet l'emportait ».

Avec Radenac et Maurice Lévy, le Professeur Lesné a pratiqué simultanément cuti et percuti-réaction sur 855 enfants de 2 à 14 ans (36).

Ces derniers auteurs constatent eux-aussi la sensibilité plus grande de l'épreuve percutanée et décident d'abandonner la pratique de la cuti-réaction en faveur de la percuti-réaction.

Les conclusions des médecins parisiens nettement plus enthousiastes que celles de l'école lyonnaise, provoqueront dans diverses facultés de province plusieurs thèses et communications dont deux à l'heure actuelle nous ont été signalées : celle du Docteur Poinso à Marseille, et celle du Docteur Boisserie-Lacroix à Bordeaux.

A la suite de la communication du Professeur Mouriquand et des nombreuses études françaises sur ce nouveau réactif, nous avons eu le plaisir de recevoir de très nombreuses demandes en provenance de l'étranger et à l'heure actuelle des essais sont entrepris en Suisse, en Belgique, en Hollande, en Espagne, en Lithuanie, aux Etats-Unis, en République Argentine et même en Iran.

Des communications ont déjà eu lieu dans ces pays, notamment celle du Docteur Maryssael à Bruxelles (37) et les renseignements qui nous sont parvenus confirment les communications françaises sur la percuti-réaction.

La plupart de ces rapports sont même plus élogieux que les travaux français bien que notre percuti-réaction ait été comparée à la cuti-réaction effectuée avec les tuberculines allemandes universellement répandues.

Au cours d'un très récent voyage en Finlande, en U. R. S. S. et en Pologne, nous avons pu intéresser divers professeurs de pédiatrie afin qu'ils essaient la néotuberculine

Au moment où cette thèse était sous presse, nous avons reçu de la Société pour les relations culturelles entre l'U. R. S. S. et l'étranger, une première statistique obtenue au fameux Institut pédiatrique de Léninegrad (38).

Les médecins de cet hôpital, dont nous ne sommes pas prêts d'oublier l'accueil, ont apprécié les avantages de la méthode et constatent que notre percuti-réaction, presque aussi sensible que l'épreuve intra-dermique, donne des résultats infiniment supérieurs à la réaction de Von Pirquet.

Nous nous excusons d'avoir exposé aussi complaisamment les détails de cette expérimentation, mais la concordance absolue de tous les médecins qui ont essayé la technique est bien en faveur de l'objectivité de la méthode (a).

La percuti-réaction effectuée avec une tuberculine très active, préparée sur milieu synthétique, constitue donc pour les praticiens une technique de dépistage en laquelle ils peuvent avoir toute confiance.

Pour nous c'est une grande joie d'avoir pu attirer l'attention de médecins de tous les pays sur un modeste institut privé où l'on s'efforce de continuer l'œuvre d'un ancien collaborateur de Pasteur.

— —

(a) Au simple titre expérimental, plus de 100.000 percutiréactions ont été effectuées par près de 1.000 médecins de formation et de nationalités diverses, sans qu'aucune critique justifiée puisse être retenue.

4° Cuti-réaction à la tuberculine concentrée

Nous avons pensé que cette tuberculine concentrée pouvait également être utilisée en cuti-réaction, lorsqu'une percuti-réaction négative avait été précédemment constatée.

En effet, en procédant ainsi, il était logique d'espérer une sensibilité plus grande et de prévoir alors un test pratique applicable en deux temps.

Sur nos indications, le Docteur Imbert, à l'hôpital Re née-Sabran de Giens — que nous sommes heureux de remercier ici pour son obligeance — a bien voulu entreprendre une expérimentation sur ce point.

Bien que la très grande sensibilité de la percuti-réaction permette déjà d'éliminer la quasi totalité des sujets allergiques, le Docteur Imbert est en mesure « d'affirmer que dans des cas isolés d'hypo-allergie, la cuti à la néotuberculine s'est montrée positive après une percuti-négative ».

Il a donc pu confirmer notre hypothèse et écrire avec Koeller que dans l'avenir « le second temps de la recherche de l'allergie sera constitué par une cuti à l'aide de notre tuberculine concentrée ».

On ferait tout d'abord la percuti-réaction, puis en cas de négativité, la même tuberculine concentrée serait utilisée en cuti-réaction ; dans ces conditions, il serait e plus souvent inutile de recourir à l'intra-dermo-réaction, technique délicate, exigeant des dilutions multiples, dont la conservation est très limitée.

IV. — INTERPRETATION DES REACTIONS

Nous venons de voir que la percuti-réaction, à l'aide de notre tuberculine se révèle suffisamment sensible et sûre pour servir de test à la mise en évidence de l'allergi dans la tuberculose.

L'absence totale des pseudo-réactions laisse le clinicien en présence des seules réactions positives ou négatives.

La plupart des statistiques montrent que les réactions positives sont l'exception chez les tous jeunes enfants alors qu'elles se constatent chez la moitié des sujets vers 15 ans et chez les 3/4 vers 21 ans.

1° *Réactions négatives.* — Dans les percuti-réactions négatives, on sait que la peau reste absolument sans changement.

a) dans l'immense majorité des cas, la réaction faite selon une technique correcte indique, lorsqu'elle est négative, que le sujet n'a jamais subi d'atteinte tuberculeuse.

On conçoit tout l'intérêt d'un tel renseignement au point de vue du diagnostic différentiel puisque la réac-

tion négative permet pratiquement d'éliminer la tuberculose (a).

Les sujets non allergiques sont évidemment exposés à la tuberculose puisque la réaction révèle qu'ils n'ont jamais été en contact avec le bacille tuberculeux : c'est une indication précieuse dans les cas, par exemple d'un étudiant en médecine ou d'une infirmière qui éviteront de commencer leur stage hospitalier par un service de bacillaires.

« De toute façon on aura intérêt à les éprouver régulièrement avec les réactions cutanées à la tuberculine pour saisir le moment où ces réactions vont « virer ». (Martinon.)

Dans l'interprétation des réactions négatives, il convient cependant de faire les réserves suivantes :

b) Il est indispensable d'éliminer le cas d'un « état anergique » bien que dans cette circonstance la réaction s'atténue plus souvent qu'elle ne disparaît.

L'anergie ne se voit d'ailleurs qu'au cours de certaines formes de la tuberculose (typho-bacillozes, méningites, période terminale) et dans certaines maladies infectieuses (typhoïde, rougeole, pneumonie, grippe, etc...).

Il est facile dans ces derniers cas de répéter la réaction lorsque l'organisme a retrouvé son état normal.

c) Il est surtout important d'éliminer la possibilité d'une réaction pratiquée pendant la période anté-allergi-

(a) A ce sujet, la thèse de Mme Martin est illustrée de radiographies particulièrement éloquentes. Des infections banales : grippe, pneumococcie, avaient donné naissance à des ombres pulmonaires très semblables à celles qu'on observe dans la tuberculose; les percutiréactions négatives ont permis de dissiper ce doute et la suite des événements confirma toujours les résultats.

que. Cette possibilité se présente notamment lorsque des parents craignent la tuberculose chez leurs enfants à la suite d'un contact très récent.

La durée de cette période pendant laquelle les réactions tuberculiniques restent encore négatives est plus ou moins longue suivant l'âge de l'enfant et l'intensité de la contamination (Debré) (39).

Des auteurs étrangers, comme Wallgren et Hamburger (40 et 41) l'ont cependant estimé de 3 à 8 semaines. Aussi lorsqu'un praticien croira se trouver en présence d'une telle période, il lui sera facile de refaire la réaction 2 ou 3 mois plus tard.

2° *Réactions positives.* — Une réaction positive est le témoin de la tuberculisation du sujet, mais elle ne permet pas de préjuger s'il s'agit d'une affection ancienne depuis longtemps éteinte ou d'une affection en activité.

Il est cependant des cas où l'attention du médecin doit être attirée :

a) *chez le jeune enfant.* — Chez l'enfant de moins de 5 ans et surtout chez le nourrisson la contamination tuberculeuse engendre le plus souvent une infection évolutive; une réaction positive à cet âge ne peut donc être prise à la légère (surveillance et soins prolongés).

b) *dans le cas des réactions très intenses* — Les réactions particulièrement intenses analogues à celle que nous avons reproduite au début de cette thèse (fig. 2) peuvent apporter au médecin des renseignements importants : en effet, c'est au début de la période tertiaire ou lors de l'in-

vation de la maladie que se voient ces réactions les plus accusées.

Une forte réaction peut donc être révélatrice d'une évolution fibro-caséuse encore au début et donc traitable.

La constatation d'une allergie très intense peut également attirer l'attention sur une primo-infection.

Le premier contact avec la tuberculose ne se manifeste pas toujours, en effet, par des manifestations cliniques bruyantes et caractéristiques, telles que la conjonctivite phlycténulaire, l'érythème noueux, certaines typho-bacilloses avec images radiologiques typiques.

La primo-infection peut être marquée seulement par la « fièvre initiale » le diagnostic est alors difficile si la réaction tuberculinique intense n'attire pas l'attention du médecin et ne le pousse à faire des examens complémentaires (lavage d'estomac, surveillance médicale stricte pendant les semaines qui suivent).

Actuellement, la plupart des auteurs (Mouriquand, Debré, Lelong, Dreyfus-Sée) attachent une importance de plus en plus grande à saisir le « virage » de la réaction tuberculinique; c'est là tout l'intérêt des percuti-réactions effectuées systématiquement dans les collectivités.

Il est important pour le médecin de famille également de savoir à quel moment l'enfant confié à ses soins a présenté une percutiréaction positive. Il pourra ainsi dépister souvent la cause de contamination et, dans certains cas, prescrire à cette période la séparation de l'en-

fant nouvellement infecté du contaminateur et un repos plus ou moins prolongé qui aura une heureuse répercussion sur toute une vie.

La percuti-réaction est la plus séduisante des techniques de dépistage.

Exécutée avec une tuberculine spéciale, elle a prouvé en quatre ans d'expérimentation qu'elle pouvait être définitivement substituée à la cuti-réaction.

CHAPITRE II

LA PERCUTI-REACTION A LA TOXINE DIPHTERIQUE CONCENTREE REPLACERA-T-ELLE L'INTRA-DERMO-REACTION DE SCHICK

L'incontestable avantage d'ordre pratique que la percuti-réaction avait révélé dans les épreuves tuberculiniques devait nous inciter à l'application du procédé dans d'autres domaines.

S'il est une réaction allergique comparable en pratique médicale à celle de la tuberculine, c'est bien l'épreuve de Schick révélatrice de l'immunité antidiphtérique.

A notre époque de « vaccination obligatoire » et de « sérothérapie massive » on conçoit l'intérêt d'un test pratique dans la prophylaxie de la diphtérie.

I. — IMMUNITÉ ANTI-DIPHTÉRIQUE

Au cours des épidémies de diphtérie, la maladie épargne de nombreux sujets et les recherches systématiques des porteurs de germes prouvent, par ailleurs, que la présence dans la gorge du bacille de Loeffler est compatible avec un parfait état de santé. Ces deux constatations mettent en évidence l'immunité antidiphtérique.

1° La défense locale de l'organisme n'est pas appréciable

Chez l'homme, le bacille de Loeffler peut pulluler dans la gorge, sans inconvénient, jusqu'au jour où, à la suite d'une intervention chirurgicale ou d'une angine banale, l'épithélium pharyngé sera en partie détruit et la diphtérie apparaîtra. « L'intégrité des muqueuses et des téguments est donc un premier élément de défense » (Chr. Zoeller). D'ailleurs, chez le cobaye, des expériences précises ont montré que la détermination d'une conjonctivo-kératite diphtérique suppose une lésion préalable de la conjonctive.

On conçoit qu'il est pratiquement impossible de mettre en évidence cette immunité locale, alors qu'il en va autrement de la défense antitoxique de l'organisme. Il

est, par ailleurs, prouvé que la présence d'antitoxines dans le sang suffit à protéger non seulement contre la toxine, mais aussi contre l'infection due aux microbes.

2° La présence d'antitoxine dans le sang peut être mise en évidence

L'antitoxine humorale peut avoir diverses formes et diverses origines.

a) L'immunité antitoxique passive est celle que l'on constate dans les quelques jours qui suivent une injection de sérum antidiphtérique. On sait que le sérum de cheval hyperimmunisé contre la diphtérie apporte à l'organisme un moyen de défense sans aucune contribution active de sa part.

b) L'immunité antitoxique acquise peut être provoquée ou naturelle. Dans le premier cas, elle provient de la vaccination si parfaitement réalisée par l'Anatoxine de Ramon; dans le second cas, elle est vraisemblablement due à des infections diphtériques minimales qui ont passé inaperçues.

Qu'il s'agisse d'immunité antitoxique naturelle ou provoquée, il est intéressant de pouvoir la contrôler pour assurer une prophylaxie logique et sérieuse de la diphtérie.

Il est impossible de tenir compte non seulement de l'immunité locale et de l'immunité à l'égard de l'infection microbienne mais aussi de la réactivité antitoxique. On désigne sous cette dénomination l'aptitude d'un sujet à réagir par la production d'antitoxines à une stimulation définie; cette propriété, depuis longtemps observée sur les chevaux au cours de l'immunisation antidiphté-

rique, joue cependant chez l'homme un grand rôle au cours de la vaccination ou de la maladie.

Le but des épreuves d'immunité dans la diphtérie sera donc de mettre en évidence par leur négativité un taux d'antitoxines suffisant pour rendre un sujet réfractaire à la maladie.

II. — HISTORIQUE DES REACTIONS D'IMMUNITÉ DANS LA DIPHTÉRIE

Dès 1894, ABEL avait remarqué que le sérum de certains sujets pouvait protéger le cobaye contre plusieurs doses mortelles de toxine et s'opposer également « au développement de la lésion œdémateuse locale que produit l'inoculation de la toxine diphtérique ». Marx utilisa ces faits en injectant dans le derme du cobaye un mélange de toxine et du sérum à étudier. Si la toxine avait été neutralisée, aucune modification locale n'apparaissait alors que dans le cas contraire, la réaction positive se manifestait par une rougeur caractéristique.

1° *Intradermo-réaction de Schick*. — Au procédé délicat de Marx, Schick, élève de V. Pirquet, substitua dès 1913 l'injection directe dans le derme du sujet de toxine diluée.

Si ce dernier ne contient pas dans son sérum d'antitoxine ou du moins s'il en renferme trop peu, la toxine détermine une lésion locale; la réaction de Schick est positive : il s'agit d'un sujet réceptif à la diphtérie.

Au contraire, s'il renferme dans ses humeurs un taux d'antitoxine correspondant à 1/30^e environ d'unité antitoxique par centimètre cube, la toxine diluée injectée par

intra-dermo-réaction sera neutralisée; aucune réaction locale ne se manifestera; c'est la réaction négative, démontrant une résistance certaine à la diphtérie.

Dans le *Traité de Microbiologie* de Nattan-Larrier, auquel nous avons fait de nombreux emprunts, Chr. Zœl-ler (42) décrit ainsi la technique de l'intra-dermo-réaction de Schick :

« La technique de la réaction de Schick comporte
« la préparation du réactif, l'injection et la lecture du
« résultat.

« La dilution utile de toxine doit être le 1/50^e de la
« dose minima mortelle en quatre jours pour un cobaye
« de 250 gr. On opère avec une toxine diphtérique an-
« cienne dont la valeur toxique s'est pratiquement sta-
« bilisée.

« Si l'on dispose d'une toxine qui, diluée à 1 p. 150
« dans l'eau physiologique, tue le cobaye à la dose de
« 1 cc., le 1/50^e de cette dose peut s'obtenir soit en di-
« luant la toxine à 1 p. 5 et en injectant 1/10^e de cc.
« de cette dilution, soit en diluant la toxine à 1 p. 10
« et en injectant 2/10^e de cc. de cette dilution; c'est
« cette dernière technique que nous conseillons d'em-
« ployer. Avec la toxine que nous avons prise pour
« exemple, on ferait une dilution à 1 p. 1.500 et on
« injecterait 2/10^e de centimètre cube.

« La technique de l'injection est celle de l'intra-dermo-
« réaction. Le matériel nécessaire — qui doit être stéri-
« lisé — consiste en une seringue graduée de 2 cc. et
« une aiguille fine à biseau court. La peau de la face
« antérieure de l'avant-bras droit est lavée à l'alcool-
« éther. L'aiguille, montée sur la seringue, est enfoncée

« directement dans le derme et introduite sous le derme.
« puis relevée de manière à pénétrer dans le derme par
« sa face profonde. Lorsque la pointe de l'aiguille est
« bien dans le derme, on rencontre une certaine résis-
« tance en poussant le piston de la seringue et on voit
« le liquide injecté déterminer la formation d'une petite
« ampoule caractéristique.

« La lecture de la réaction se fait le 3° ou mieux, le
« 4° jour qui suit l'injection. Une réaction positive se
« caractérise par une tache rouge arrondie qui mesure
« 1 cm. 5 de diamètre. Elle apparaît, en général, 24 à
« 48 heures après l'inoculation, atteint son développe-
« ment maximum au 4° jour, puis commence alors à
« régresser. Elle disparaît peu à peu et laisse une des-
« quamation légère et une pigmentation assez durable.

« Il pourrait être parfois assez délicat de distinguer
« la réaction vraie de la « fausse réaction » que pré-
« sentent certains sujets. La pseudo-réaction de Schick
« n'est pas une réaction toxinique, mais une réaction
« protéinique : elle est déterminée par les traces de pro-
« téines diphtériques qu'une toxine renferme toujours.
« Pour se mettre à l'abri de toute cause d'erreurs, on peut
« pratiquer à l'avant-bras gauche une inoculation de
« contrôle en se servant du réactif qui a été inoculé au
« bras droit, mais en ayant soin de le chauffer pendant
« 5 minutes à 75 degrés; ce chauffage détruit l'élément
« toxique, mais respecte l'élément protéinique. La
« « pseudo-réaction » de Schick provoque l'apparition
« d'une tache rouge qui se montre au bout de 24 heures
« et a disparu en général au 4° jour : la réaction protéi-
« nique est donc plus précoce et moins durable que la

« réaction de Schick. En réalité, si l'on a soin de lire
« la réaction de Schick au 4^e jour; il est exceptionnel
« d'être exposé à une erreur.

« Des trois temps de la réaction de Schick, le second,
« celui de l'injection, est le plus banal; il suffit d'avoir
« fait trois ou quatre fois une intra-dermo-réaction pour
« en posséder la technique. On ne peut préparer les dilu-
« tions sans disposer d'un laboratoire, car la toxine doit
« être manipulée avec le plus grand soin et avec une par-
« faite asepsie. Quant à la lecture des résultats, elle
« nécessite un apprentissage dont on ne saurait se pas-
« ser. » ,

La toxine diphtérique stabilisée a longtemps été délivrée par l'Institut Pasteur de Paris en petites ampoules de 2 cc. environ de toxine, la dilution devant être préparée extemporanément.

Maintenant l'I. P. délivre, toute prête, une dilution dont la conservation n'excède pas deux à trois jours.

Cet exposé montre bien les inconvénients d'ordre pratique qui ont considérablement nui à la vulgarisation de l'intra-dermo-réaction de Schick. Les praticiens sont, en général, peu familiarisés avec l'exécution et l'interprétation des réactions intra-dermiques; ils déplorent en outre le manque de conservation de la toxine diluée qui ne permet pas d'avoir le réactif constamment à leur disposition.

L'intra-dermo-réaction de Schick a permis néanmoins l'étude de l'immunité antidiphtérique et à ce sujet, les statistiques les plus intéressantes ont été établies dans les hôpitaux militaires.

Selon Chr. Zoeller, le pourcentage des réactions de

Schick positives serait le suivant :

A la naissance, tous les enfants ne sont pas réceptifs à la diphtérie. Certains, en présentant une réaction négative, révèlent une immunité passive d'origine maternelle qui disparaîtra assez rapidement (43).

Le nombre des *réactions de Schick positives* peut atteindre 70 % chez les enfants de 2 à 5 ans. Il ira en diminuant pour atteindre 10 à 12 % chez les adultes.

Cette diminution croissante du nombre des sujets réceptifs ne provient pas seulement de l'âge, mais aussi des contagions plus ou moins fréquents avec le bacille de Loeffler.

Le pourcentage des sujets réceptifs établi par l'emploi systématique de l'épreuve de Schick a permis d'établir dans chaque département une sorte de « constante diphtérique » dont les variations sont vraisemblablement dues à la densité de la population et au climat plus ou moins pluvieux.

L'interprétation des *réactions de Schick négatives* prête davantage à discussion que celle des résultats positifs, car il a été démontré que malgré l'épreuve négative, un certain nombre de sujets pouvaient contracter la diphtérie.

Parmi divers auteurs, Meersseman (44) est celui qui trouve le plus grand nombre de défaillances puisque dans sa statistique, 1 % des sujets à réaction de Schick négative ont présenté des cas de diphtérie, mais par des titrages précis Meersseman a montré que ces défaillances pouvaient s'expliquer par l'emploi d'une toxine trop diluée : Il s'est rendu compte en effet qu'un tel réactif révélait comme négatifs, des sujets présentant un taux d'antitoxine inférieur à 1/30° d'unité par cc.; taux insuf-

fisant pour éviter la diphtérie.

Le titrage de l'antitoxine humorale s'effectue par le procédé d'Ehrlich modifié par Ramon. On injecte à une série de cobayes le mélange d'une dose de toxine étalon égale à $1/30$ de L + et une quantité décroissante du sérum à étudier. La mort de l'animal dans les quatre jours qui suivent, indique que la quantité de sérum injectée contenait moins de $1/30^e$ d'unité antitoxique.

Pour Meersseman, l'emploi d'une toxine deux fois moins diluée qu'à l'ordinaire ($1/300^e$ au lieu de $1/600^e$ par exemple) permettrait d'éviter de tels faits dont la constatation ne peut que nuire à la valeur des réactions d'immunité.

Il est certain, en outre, que la toxine diphtérique pure ou diluée, est soumise à des variations brutales de toxicité qui sont bien gênantes pour l'expérimentateur et expliquent les discordances de certaines statistiques.

Certains ayant prétendu que la réaction de Schick était soumise à des *variations saisonnières* qui auraient expliqué les variations de la morbidité, quelques expérimentateurs ont mis en évidence dans des statistiques précises qu'il n'en était rien ; non seulement on a constaté que le pourcentage de Schick positif était à peu près constant en toute saison, mais P. Nélis (45) a fait l'expérience cruciale en répétant l'épreuve de Schick sur les mêmes sujets en différentes saisons, sans constater de discordance.

On a également discuté pour savoir si les réactions négatives de Schick répondaient de l'avenir (46) et on a constaté que dans certains cas (fatigue des jeunes soldats pendant les premiers mois d'incorporation) les réactions

négatives pouvaient devenir positives dans un très petit nombre de cas.

De l'ensemble de ces faits, il faut retenir que les erreurs d'interprétation et la valeur inconstante de la toxine ne sont pas étrangères à certaines discussions et il est d'autant plus remarquable que tous les auteurs sont d'accord pour reconnaître que la valeur de la réaction de Schick comme test de l'immunité diphtérique, est bien démontrée.

2° *Anatoxi-réaction de Zøeller*. — Il eût été séduisant d'adopter pour la réaction de Schick non plus une toxine diluée, mais bien l'anatoxine puisque les travaux de G. Ramon ont montré que l'addition de formol, dans certaines conditions, détruisait le pouvoir toxique, tout en conservant les qualités antigéniques de la toxine diphtérique.

Selon les dires de Chr. Zøeller lui-même, l'anatoxi-réaction n'est pas, en tous points, comparable à l'épreuve de Schick et ne saurait lui être substituée.

L'anatoxi-réaction (47) est une réaction d'hypersensibilité provoquée par l'injection intra-dermique de l'anatoxine diluée à 1 % dans l'eau physiologique. Les réactions se manifestent après 24 heures par l'apparition d'une rougeur et d'une infiltration légère. Elle est particulièrement marquée sur les convalescents de diphtérie.

La pratique simultanée des deux épreuves de Schick et de Zøeller permet de considérer quatre groupes : Réaction de Schick positive et Anatoxi-réaction négative, réaction de Schick positive et anatoxi-réaction positive,

réaction de Schick négative et anatoxi-réaction positive, réaction de Schick négative et anatoxi-réaction négative.

Ces quatre groupes représenteraient les stades successifs de l'immunisation occulte de la diphtérie. Cette technique est donc à même de rendre de grands services dans l'étude de l'allergie diphtérique, mais ne peut remplacer la réaction de Schick puisque l'hypersensibilité mise en évidence par l'anatoxi-réaction, peut se développer sans que l'immunité apparaisse.

3° *Cuti-réaction de Th. Reh.* — En 1934 (48), Th. Reh laissait déjà entrevoir les caractères spécifiques de la cuti-réaction à la toxine diphtérique et depuis cette époque, de nombreuses communications ont démontré l'intérêt pratique de la méthode tout en soulignant sa concordance presque constante avec l'intra-dermo-réaction de Schick.

Reh utilise en cuti-réaction, une toxine très active puisqu'elle doit tuer le cobaye au 1/2.000^e de cc.

La technique définitivement adoptée est la suivante :
« Au moyen d'un mouvement en vrille imprimé au vaccinostyle, on fait deux scarifications cutanées punctiformes sur l'avant-bras, distantes de 5 cm. et on dépose sur la scarification inférieure, la supérieure servant de témoin, 1 goutte de toxine qu'on laisse sécher à l'air. »

Selon l'auteur, la méthode présente de très nombreux avantages (49).

« Abstraction faite de son innocuité et de sa spécificité, caractères qu'elle partage avec l'intra-dermo-

« réaction de Schick, la cuti-réaction a sur cette dernière, l'avantage :

« D'être plus simple et plus facile comme exécution;

« De ne pas nécessiter le recours à une toxine diluée et peu stable, mais d'employer une toxine pure, facile à conserver à la glacière ;

« D'être d'interprétation plus sûre, ne donnant pas lieu à une pseudo-réaction;

« De permettre une lecture plus rapide, possible dès le second jour (zone d'hypérémie de 3 à 15 millimètres, centrée le plus souvent d'une vésico-croûte) ;

« De jouer enfin probablement un certain rôle d'antigène par la quantité minime de toxine à titre élevé qu'elle laisse pénétrer dans l'organisme. »

« Du fait de sa spécificité, les indications de la cuti-réaction coïncident avec celles de l'intra-dermo-réaction de Schick, mais sa simplicité en permet une application plus étendue, tant comme test de réceptivité (discrimination des sujets à vacciner) que comme contrôle d'efficacité de la vaccination. (Nous nous en servons actuellement à l'exclusion de Schick, pour tous les élèves que nous adresse à cet effet le médecin en chef des écoles).

« Du fait de sa précocité (apparition dès le second jour), la cuti-réaction rend possible — ce qui n'est pas le cas pour l'intra-dermo-réaction d'apparition lente — un cuti-diagnostic suffisamment rapide des angines banales chez les porteurs de bacilles de Lœffler pour pouvoir servir de cuti-pronostic. »

Plusieurs auteurs, notamment Andrieu et Tourniaire (50), Nélis et Van den Houten (51), Tron et Torelli (52)

Ruelle (53) ont confirmé la valeur de la cuti-réaction de Reh et, très récemment, P. Nélis y a insisté à nouveau (54).

Après divers essais, N. a adopté exactement la technique de Th. Reh et voici quelles sont ses conclusions :

« Les toxines utilisées provenaient des Instituts Pasteur de Paris et de Bruxelles et titraient entre 30 et 38 U. A.

« L'essai mentionné a porté sur 443 enfants dont une partie avait été vaccinée régulièrement par l'anatoxine diphtérique.

« Il a consisté à effectuer sur chaque enfant : 1° une réaction de Schick; 2° une réaction de Schick contrôle (toxine chauffée); 3° une cuti-réaction; 4° une cuti-réaction contrôle (toxine pure chauffée). La lecture de ces réactions a été faite uniformément le troisième jour.

« Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

Réaction de Schick - Cuti-réaction

Schick	Témoin	Cuti	Témoin	Nombre	Pourcentage
—	—	—	—	273	
+	—	—	—	142	94,4
+	+	+	+	3	
+	—	—	—	20	5,6
—	—	+	—	5	

« Nous avons donc eu : 415 réactions concordantes auxquelles nous pouvons ajouter trois fausses réactions (réactions négatives) qui sont très facilement différenciables de la réaction typique toxinique, soit donc 94,4 p. 100. Par contre, nous avons obtenu 25 réactions discordantes qui se répartissent comme suit :

« 20 dans lesquelles le Schick est positif et la cuti-
« réaction négative, soit 4,5 p. 100; 5 dans lesquelles
« l'inverse se produit, soit 1,1 p. 1.000. Dans l'ensemble,
« les réactions discordantes atteignent donc 5,6 p. 100,
« chiffre qui se rapproche du résultat antérieur (discor-
« dances 4 p. 100). Ces essais montrent en plus, que la
« cuti-réaction de Reh est un peu moins sensible que
« l'intra-dermo-réaction puisque les 4/5 des réactions
« discordantes sont celles où le Schick est positif et la
« cuti-réaction négative.

« Nous utilisons, néanmoins, la réaction de Reh lors-
« que nous procédons, dans les collectivités importantes,
« au dépistage des enfants réceptifs en vue de leur vacci-
« nation antidiphtérique. »

Parmi les divers auteurs ayant utilisé la cuti-réaction de Reh, aucun n'a mentionné les inconvénients que présente la manipulation d'une toxine liquide aussi active, car dans un hôpital où le personnel se renouvelle fréquemment, une méprise est toujours à craindre et l'injection de toxine non diluée peut avoir les plus graves conséquences.

On peut déplorer également que la cuti-réaction se montre un peu moins sensible que l'épreuve intra-dermique car, comme nous l'avons signalé, celle-ci fournit quelquefois un pourcentage insuffisant de réactions positives.

Les travaux de Reh réalisent, néanmoins, un important progrès dans le dépistage de l'immunité antidiphtérique et ils nous ont servi de base pour nos recherches sur la percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée.

III. — NOUVELLE METHODE DE PERCUTI-REACTION A LA TOXINE DIPHTERIQUE CONCENTREE (Etude personnelle)

Par suite du manque de conservation de la toxine diluée et de la délicatesse de sa technique, l'intra-dermo-réaction de Schick n'a pas pénétré dans la pratique médicale.

La pratique de la cuti-réaction de Reh nous a montré qu'il était inutile de recourir à l'injection intra-dermique pour mettre en évidence l'immunité anti-diphtérique et a prouvé que la scarification à l'aide d'une toxine diphtérique cependant très active était parfaitement inoffensive.

Ces diverses constatations devaient nous inciter à essayer la percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée. Il serait, en effet, extrêmement intéressant de disposer d'un test aussi pratique pour la mise en évidence de l'immunité dans la diphtérie.

1° *Concentration de la toxine diphtérique pour percuti-réaction.* — Afin que notre toxine se présente sous un état

pâteux, nous glycerinons à 6 % la toxine diphtérique (a) avant de la concentrer au 1/60^e de son volume initial.

Nous employons volontairement une toxine affaiblie, car il est suffisant, après concentration, que notre réactif tue le cobaye au 1/5000^e environ (56).

La concentration de la toxine en milieu glyceriné, la met à l'abri des contaminations microbiennes et lui assure une longue conservation (b). Par suite de sa toxicité, ce réactif doit être évidemment manié avec précaution, mais en cas de méprise, son état pâteux empêcherait toute injection.

Afin d'accentuer ce caractère, il serait sans doute possible d'utiliser pour la percuti-réaction une toxine diphtérique concentrée sans glycérine, mais incorporée à un mélange de lanoline et de vaseline.

réaction s'effectue généralement sur la région sternale et

2° *Technique de la percuti-réaction.* — La percuti-comporte comme premier temps le décapage de la peau à l'aide d'un tampon de gaze sec jusqu'à l'apparition d'un léger érythème (c).

(a) Nous avons utilisé une souche de bacille diphtérique qui nous a été fort aimablement adressée par le Service de la Standardisation Biologique de la S.D.N. et nous sommes très heureux de remercier ici l'Institut Sérologique de l'Etat Danois qui assure cette tâche d'une façon remarquable.

On sait combien est complexe la préparation régulière d'une toxine diphtérique active et il convient de signaler à ce propos le très intéressant travail de MM. Loiseau et Philippe. (55.)

(b) Le premier échantillon de toxine concentrée que nous avons utilisé a gardé toute sa valeur toxique pendant trois mois au moins.

(c) Nous avons renoncé au décapage de la peau à l'éther qui semble nuire à l'évolution de la réaction.

On dépose alors sur la peau une goutte de toxine concentrée que l'on fait pénétrer par une friction d'une trentaine de secondes environ à l'aide du doigt, muni d'un doigtier.

Les réactions positives se manifestent dans les 24 à 48 heures qui suivent, par une éruption absolument caractéristique, alors que la peau reste sans changement en cas de négativité.

Innocuité de la percuti-réaction. — Les travaux célèbres de Besredka sur l'immunité locale ont notamment mis en valeur l'innocuité pour l'organisme de la toxine diphtérique appliquée sur la peau (57).

Cet auteur a montré que la peau avait une affinité particulière pour la toxine du bacille de Loeffler et qu'elle lui opposait ainsi une barrière absolument infranchissable.

Par ailleurs, l'expérimentation de l'épreuve cutanée de Reh avait révélé sa parfaite innocuité. Les nombreux auteurs qui ont utilisé la méthode sur des milliers d'enfants n'ont jamais constaté le moindre inconvénient d'ordre local ou général bien qu'ils aient utilisé en cuti-réaction profonde une toxine diphtérique particulièrement active tuant le cobaye à un taux supérieur au 1/2 000°.

Malgré la certitude que donne l'exposé de ces faits, nous avons tenu à effectuer des percuti-réactions sur la peau rasée du cobaye.

Elles se sont révélées parfaitement inoffensives pour cet animal bien que nous ayons multiplié les expériences en pratiquant les frictions sur une grande surface de la peau rasée le jour même ou la veille. Même lorsque les

Percuti-Réaction à la toxine diphtérique concentrée

Désignation des sujets (1)	Percuti- réaction Toxine diphtérique concentrée.	Percuti- réaction Témoin	Intra-dermo- réaction de Schick	Intra-dermo- réaction Témoin
Al.	++	0	+	0
Dub.	+++	0	+++	0
X.	0	0	0	0
Mag.	0	0	0	0
X.	0	0	0	0
Bal.	0	0	0	0
Gai.	0	0	0	0
X.	0	0	0	0
Sam.	+	0	?	0
X.	0	0	0	0
Per.	0	0	0	0
Bl.	++	0	++	0
X.	0	0	0	0
Bea.	0	0	0	0
Lab.	+++	0	+++	0
Duv.	0	0	0	0
X.	0	0	0	0
Pig.	+++	0	+++	0
La.	+++	0	++	0
X.	0	0	0	0
Dr.	+	0	+	0
X.	0	0	0	0
Fou.	0	0	0	0
Rey.	0	0	0	0
Peg.	0	0	0	0

(1) Cette première statistique a été établie à l'Hôpital du Perron, dans le Service du Professeur Bernheim, avec la collaboration de MM. Jarricot, interne, Durand et Chabaud-Sassoulas, externes.

percuti-réactions ont été effectuées avec une toxine concentrée tuant au 1/9.000^e par voie sous-cutanée, elles ont laissé les cobayes parfaitement indifférents et les autopsies pratiquées sur les animaux sacrifiés quelques jours ou quelques semaines plus tard n'ont révélé aucune lésion.

3° *Valeur de la percuti-réaction.* — Grâce à la confiance qu'a bien voulu nous accorder le Professeur Bernheim nous avons déjà pu effectuer, sur les enfants de son service, une première série d'épreuves dont les résultats sont consignés sur le tableau ci-contre (58).

Sur 25 enfants, nous avons effectué simultanément l'intra-dermo-réaction à la toxine diluée et à la toxine diluée chauffée, la percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée et la percuti-réaction de contrôle à l'aide du même réactif chauffé.

Huit fois la percuti-réaction a été positive, alors que l'épreuve intra-dermique l'était également (a) les réactions de contrôle ont toutes été négatives.

Dix-sept fois les épreuves furent toutes négatives.

Il est notamment intéressant qu'aucune pseudo-réaction n'ait été constatée; en effet nous avons tenu à faire nos expériences sur des enfants tuberculeux ou les pseudo-réactions dues aux protéines des bouillons de viande ont été souvent signalées et encore très récemment.

Cette petite statistique n'est évidemment pas suffisante pour garantir la valeur de la percuti-réaction à la toxine

(a) Il est prématuré de juger la valeur comparée des deux épreuves sur un si petit nombre de cas, mais il est permis de constater que les « Schick positifs » se sont manifesté moins nettement et plus tardivement.

diphthérique, mais la netteté des résultats et leur concordance avec l'intra-dermo-réaction de Schick incitent à l'établissement d'une prochaine statistique qui portera sur un grand nombre de cas.

4° *Inconvénient de la percuti-réaction.* — Notre percuti-réaction a l'inconvénient, comme la cuti-réaction de Reh, de nécessiter l'emploi d'une toxine très active (notre réactif est même plus toxique : $1/5.000^{\circ}$, que celui de Reh $1/2.500^{\circ}$), mais son emploi sur la peau ne présente aucun danger et nous avons déjà signalé que l'état pâteux de notre toxine s'opposait absolument à ce qu'on puisse l'injecter.

D'ailleurs, la tuberculine qui connaît cependant une vogue considérable, est un réactif qu'il serait dangereux d'injecter et chaque médecin recourt journellement à certains toxiques plus délicats à manier que notre toxine diphthérique.

5° *Avantages de la percuti-réaction.* — Cette technique présente des avantages très nets, non seulement sur l'intra-dermo-réaction, mais aussi sur la cuti-réaction; ils proviennent de l'antigène d'une part et de la réaction d'autre part.

a) La toxine diphthérique concentrée pour percuti-réaction, a une *conservation* très longue et elle peut se manipuler sans précaution d'asepsie spéciale, alors que la toxine pure ou diluée a une conservation limitée (quelques jours pour la toxine diluée) et doit être manipulée aseptiquement.

La stabilisation de notre toxine, par sa concentration en milieu glyciné, doit permettre d'éviter les variations

soudaines du pouvoir toxique, qui ont induit en erreur bien des expérimentateurs.

Sur la toxine pure employée par Reh, notre toxine concentrée a l'avantage de son *état pâteux* rebelle à toute injection malencontreuse.

b) La percuti-réaction est une technique d'*exécution simple* : elle est facilement acceptée même par les jeunes enfants, car elle s'effectue rapidement sans nécessiter l'emploi d'une seringue ou d'un vaccinostyle.

Son plus grand intérêt réside cependant dans son *extrême facilité d'interprétation*, les réactions positives se manifestent toujours par une éruption si caractéristique qu'elles ne peuvent échapper à l'œil le moins exercé.

La *précocité de réponse* est également à signaler puisque nous avons obtenu nos premiers résultats positifs en 24 et 48 heures.

Nos premiers essais et l'expérience que nous avons de la percuti-réaction permettent de garantir l'*absence des pseudo-réactions* si gênante dans l'emploi d'un test biologique qui doit être avant tout rigoureusement spécifique.

IV. — UTILITE ET INTERPRETATION DES ÉPREUVES D'IMMUNITÉ DANS LA DIPHTÉRIE

En étudiant l'histoire de l'intra-dermo-réaction de Schick nous avons signalé que tous les auteurs s'accordaient à reconnaître sa valeur comme test de l'immunité antidiphtérique.

La simplicité et les avantages de la cuti-réaction de Reh ou de notre percuti-réaction ne peuvent que vulgariser le recours aux épreuves d'immunité dans la diphtérie.

Pour s'en convaincre, il n'y a qu'à considérer l'accueil qu'a reçu dernièrement en France la percuti-réaction à la tuberculine; bien que la classique cuti-réaction de V. Pirquet soit une méthode simple, la percuti-réaction lui a partout été préférée et la pratique des épreuves tuberculiniques a pu ainsi pénétrer dans les collectivités importantes où elle rend journellement les plus grands services.

Dans la diphtérie, la pratique de la vaccination rendue obligatoire ou de la sérothérapie le plus souvent pratiquée

à doses massives ne pourra que bénéficier d'un test aussi pratique que la percuti-réaction si sa valeur se révèle comparable à la cuti-réaction et à l'intradermo-réaction.

1° Vaccination antidiphtérique et test d'immunité

Avant de vacciner contre la diphtérie, la pratique d'une épreuve d'immunité permet d'éliminer les sujets qu'une réaction négative révèle comme réfractaires à la diphtérie. C'est ainsi du moins que de nombreux médecins procèdent dans les collectivités importantes surtout lorsqu'il s'agit de vacciner les adultes ou des enfants ayant dépassé dix ans.

Après la vaccination ou au cours de celle-ci, il est recommandé de s'assurer de son efficacité en recourant aux réactions d'immunité.

On sait, en effet, qu'en créant l'immunité, la vaccination doit négativer les réactions qui étaient positives auparavant. Dans le cas contraire, une injection supplémentaire d'anatoxine devra être pratiquée pour renforcer la vaccination.

Au moment de pratiquer les injections de rappel, il sera bon également de vérifier l'immunité du sujet.

Par ailleurs comme le laissait prévoir les travaux de Besredka (58 *b*) les travaux de Reh ont montré que la cuti-réaction à l'aide d'une toxine active avait non seulement une valeur diagnostique mais qu'elle était capable elle-même de réactiver la vaccination (59).

Reh a, en effet, constaté sur le lapin d'abord, puis sur l'enfant, que des scarifications à la toxine suffisaient dans certains cas pour négativer l'épreuve de Schick et confirmer ainsi l'établissement d'une certaine immunité.

Nous nous proposons d'essayer la réactivation de l'immunité antidiphtérique par la percuti-réaction, non seulement avec notre toxine concentrée, mais aussi avec de l'anatoxine également concentrée.

2° Sérothérapie antidiphtérique et test d'immunité

Dans l'entourage des porteurs de germes, il est certainement inutile d'injecter du sérum aux personnes présentant des réactions négatives.

L'apparition d'un cas de diphtérie dans une famille ou dans une collectivité, pose un grave problème, car l'immunité active de la vaccination demande pour s'établir, un certain laps de temps au cours duquel la contagion peut se manifester.

Théoriquement, il est donc recommandé d'injecter du sérum à tous ceux qui entourent le malade; ils seront ainsi garantis d'une façon certaine pendant une dizaine de jours, mais il n'en est pas moins vrai que la crainte d'un choc anime toujours les praticiens au moment d'injecter un sérum.

L'emploi d'un test aussi pratique que la percuti-réaction, en permettant de dépister rapidement les sujets réfractaires, épargnerait à ceux-ci une injection de sérum, inutile et parfois dangereuse.

Dans la diphtérie elle-même, surtout sous sa forme bactériologique, il peut être utile de recourir à un test d'immunité.

Le médecin est souvent perplexe lorsque le laboratoire met en évidence le bacille de Loeffler au cours d'une angine qui semble banale. Notre percuti-réaction, comme l'épreuve de Reh, présente l'avantage de donner une

réponse rapide, généralement dans les 24 à 48 heures. Une réponse négative permettrait, sinon de ne pas faire de sérum, tout au moins de réduire les doses et de faire certainement un pronostic de bonne évolution.

Chr. Zoeller (60 au cours de 144 angines diphtériques confirmées par le laboratoire, a pratiqué systématiquement l'épreuve intra-dermique de Schick et a trouvé seulement vingt réactions positives.

Ce pourcentage important de sujets réfractaires confirme donc l'intérêt certain qu'il y aurait à les dépister pour permettre un emploi plus judicieux de la sérothérapie.

En conclusion, la technique de percuti-réaction que nous proposons pour le dépistage de l'immunité anti-diphtérique doit tout d'abord faire la preuve d'une valeur comparable aux épreuves de Schick et de Reh.

Sa simplicité d'exécution, sa facilité et sa rapidité dans la lecture des résultats incitent à en continuer l'expérimentation par suite des très grands services qu'elle peut rendre dans la prophylaxie de la diphtérie.

CHAPITRE III

APPLICATION NOUVELLE DE LA PERCUTI-REACTION AU DEPISTAGE DES BRUCELLOSES HUMAINES

Les Brucelloses humaines, longtemps désignées sous le nom de fièvre de Malte, sont exclusivement d'origine animale ; c'est donc au praticien de campagne qu'il importera le plus souvent d'en faire le diagnostic.

D'exécution simple et d'interprétation facile, la percuti-réaction à l'aide d'un antigène spécifique rendrait donc les plus grands services dans le dépistage des sujets atteints de brucellose.

I. — ACTUALITE DES BRUCELLOSES

« La fièvre de Malte est une maladie d'avenir », nous rappelions cette phrase du grand savant français Nicolle au début d'un petit article que nous avions rédigé il y a quelques années, avec tout l'enthousiasme de la jeunesse. Nous nous sommes rendus compte depuis que cet aphorisme se trouvait non seulement en tête de la plupart des études sur les Brucelloses, mais surtout que le terme de « maladie du jour » proposé par Ch. Dubois (a) convenait beaucoup mieux aux Brucelloses humaines (61).

L'extension des Brucelloses s'est faite à travers le monde avec une extrême rapidité et H. Violle (62), décrit parfaitement l'histoire curieuse de la fièvre de Malte.

« Il y avait au siècle dernier, dans l'île de Malte, en pleine Méditerranée, une affection qui sévissait depuis fort longtemps, faisant beaucoup de malades, sinon de morts, et dont on ignorait totalement la cause.

(a) Ch. Dubois, à la fois médecin et vétérinaire, résidant dans un département particulièrement contaminé, a pu suivre depuis 30 ans l'extension des Brucelloses. Seul ou avec la collaboration du Docteur Sollier, il a contribué à la mise au point de diverses méthodes de diagnostic, de prévention ou de traitement chez l'homme et les animaux.

« Un médecin anglais, en 1886, en examinant la rate très hypertrophiée de sujets qui venaient de succomber à cette fièvre, y décela la présence de microbes très petits que l'année suivante il arriva à isoler et à cultiver. C'était Bruce. En souvenir de cette découverte, le microbe porta le nom du savant médecin : c'est le microbe de Bruce. En souvenir du lieu de la maladie, l'affection porta le nom de fièvre de Malte.

« Vingt-deux ans passent ! La maladie maintenant connue, cataloguée, continue cependant à faire de nombreuses victimes et l'affection se dissémine dans tout le bassin de la Méditerranée. Des commissions sont envoyées pour étudier cette étrange affection, préciser l'origine des contaminations, la pathogénie et l'épidémiologie.

« Un des membres de la commission opère sur des singes et reproduit la maladie expérimentale, mais bientôt le matériel se raréfie et l'expérimentation va cesser. Il a l'idée de s'adresser aux animaux qui foisonnent dans ce pays et sont bon marché : ce sont les chèvres. Mais qu'elle n'est pas sa surprise en examinant les animaux sains d'apparence qui vont lui servir d'expérience, que ces animaux sont pour la plupart déjà parasités par le microbe même qu'il veut leur inoculer ».

Cette belle découverte due à Zammit en 1905 démontrait que l'agent de transmission était la chèvre, et cette connaissance nouvelle stimula les efforts de tous les chercheurs.

La « fièvre caprine » s'étend de plus en plus et les épidémiologistes la baptisent alors « fièvre méditerranéenne ».

« Mais voici qu'au lendemain de la guerre, en 1918, le

problème prend subitement une ampleur inouïe ». (H. Violle).

Une bactériologiste américaine, Alice Evans (63), constate avec étonnement que le microbe de l'avortement des chèvres, agent de la fièvre méditerranéenne, présente des analogies frappantes avec le bacille de l'avortement épidémiologique de la vache, découvert par le savant danois, Bang.

En faveur de cette similitude, Miss Evans devait d'ailleurs déceler le premier cas de contamination chez l'homme par le bacille de Bang « *Brucella abortus bovis* ».

Bien que ce germe soit moins virulent pour l'homme que *Brucella Melitensis*, on ne tardait pas dans les divers pays du monde à constater sa transmission. Il en était de même pour un troisième germe analogue, trouvé chez le porc, « *Brucella abortus suis* ».

Pour la troisième fois, le nom du fléau allait donc être modifié pour attribuer le terme logique de Brucellose à cette maladie infectieuse, contagieuse commune à l'homme et aux animaux et due aux trois types de microbes qui constituent l'espèce *Brucella*.

La *Brucella* est un germe très polymorphe, de forme coccobacillaire (a) qui ne reste pas coloré par la méthode de Gram et, sans entrer en détail dans sa bactériologie, il faut cependant signaler que la *Brucella* se cultive sur les milieux usuels de laboratoire, mais que diverses formes nécessitent pour se développer une certaine tension de gaz carbonique.

(a) Il est vraiment curieux qu'un germe identique ait pu être appelé Coccobacille par Bruce et bacille par Bang !

Pour différencier *Brucella Mélitensis*, *Brucella Abortus* bovis et *Brucella Abortus* suis, des méthodes compliquées ont été proposées, telle la réaction de Huddleson, basée sur l'action sur les sucres et le dégagement plus ou moins prononcé d'H₂S ainsi que sur l'action plus ou moins empêchante de matières colorantes.

Le centre de recherches de Montpellier — qui, sous la direction du Professeur Lisbonne, a rendu à la France des services considérables dans la mise au point des méthodes de diagnostic — a particulièrement bien étudié les méthodes de différenciation des diverses *Brucella* (64).

Leur valeur et leur intérêt sont certains, mais des praticiens peu familiarisés avec les artifices de laboratoire se plaisent à rappeler les paroles que Ch. Nicolle avait prononcées avec une vigueur toute pasteurienne (65) :

« Ce que nous avons fait dans la voie de la connaissance des Brucelloses, tout cela est extrêmement intéressant et cela nous a beaucoup instruit, mais, il est temps actuellement de passer à d'autres exercices; nous pardons notre temps; des gens fort intelligents perdent leur temps ».

Et plus loin l'illustre savant donnait le conseil que nous avons placé en tête de notre thèse, « ce qu'il importait était de trouver quelque chose qui soit pratique au diagnostic, à la prévention et au traitement ».

En effet puisqu'il est prouvé à l'heure actuelle que *Brucella Abortus*, comme *Brucella Mélitensis* peut être dangereuse pour l'homme, peu importe le plus souvent au médecin de savoir le nom du germe, son pouvoir pathogène seul l'intéresse.

Il est démontré par ailleurs que les Brucelloses anima-

les constituent pour l'homme un immense foyer de contamination.

La lutte contre les Brucelloses humaines nécessite donc des méthodes de dépistage précises et l'éradication complète de la maladie chez l'animal.

Avant d'aborder le problème du diagnostic biologique, il nous semble utile d'étudier en quelques lignes les Brucelloses animales et les Brucelloses humaines.

1° BRUCELLOSES ANIMALES. — La plupart des animaux domestiques peuvent être contaminés par les *Brucella*, puisque, indépendamment de l'avortement épizootique des bovins et des mélitococcies ovines et caprines, ces germes peuvent être en cause chez le porc, chez le cheval et même chez les animaux de basse-cour.

Dans ces diverses espèces, les Brucelloses peuvent se manifester par des symptômes variables mais elles sont surtout caractérisées par leur évolution chronique et la fréquence des avortements.

La mélitococcie des chèvres et des moutons est très redoutée car elle est due à *Brucella melitensis*, particulièrement pathogène pour l'homme. L'avortement est le signe le plus fréquent de cette maladie qui reste localisée au bassin méditerranéen.

Chez les bovins, par contre, la Brucellose ou avortement épizootique présente un caractère universel. Elle est connue dans le monde entier et fait au point de vue économique des ravages considérables.

En effet, en pays infecté, 10 % environ des vaches avortent et la sécrétion lactée peut être diminuée de 30 %. Chez les femelles infectées dont les produits naissent à

terme, ces derniers peuvent être contaminés et succombent quelques jours après la naissance.

Du point de vue hygiénique, ces animaux constituent en tant que porteurs de germes, un danger permanent d'infection pour les humains qui les soignent. Ces dernières années, de nombreuses communications ont démontré l'existence du péril bovin dans la transmission des brucelloses à l'homme.

Chez les porcins, la maladie se traduit également par des avortements, et chez les équidés par des suppurations tenaces. On a signalé des cas de mort rapide dus à la *Brucella* chez les animaux de basse-cour.

Les carnivores domestiques eux-mêmes ne seraient pas à l'abri de l'infection puisque chez la chienne on a mis en évidence des cas d'avortement et de métrite dus aux *Brucella*.

a) *Diagnostic*. — La variété des symptômes rend trop souvent le diagnostic clinique incertain et c'est à la bactériologie qu'il appartient de mettre en évidence les malades et les porteurs de germes.

Les cultures de *Brucella* dans le lait et dans le sang se heurtent généralement en médecine vétérinaire à des impossibilités pratiques et c'est au séro-diagnostic de Wright qu'on a le plus fréquemment recours.

Ces dernières années, les travaux de Ch. Dubois et ceux de divers expérimentateurs, notamment P. Rossi, ont mis en valeur l'intra-dermo-réaction pratiquée avec une émulsion microbienne stérilisée; c'est là un procédé particulièrement séduisant car il peut être utilisé par le praticien lui-même (66 à 71).

Après beaucoup d'autres, nous avons montré que l'in-

tra-dermo-réaction ainsi pratiquée avait une valeur comparable au séro-diagnostic (72).

b) *Prévention et traitement.* — D'innombrables vaccins tués ont été préparés soit pour le traitement, soit pour la prévention des Brucelloses animales. Des essais nombreux ont prouvé que leur fabrication répondait plus souvent à des considérations commerciales qu'à des préoccupations scientifiques.

Par contre, la prémunition à l'aide de germes vivants a fait ses preuves d'efficacité. Son but n'est pas de vacciner l'organisme, mais bien de le surinfecter afin d'amener plus rapidement la cessation naturelle des avortements.

Toutefois, cette pratique a été interdite dans de nombreux pays par suite du danger de ces vaccins vivants, sous le prétexte qu'ils créeraient de nombreux porteurs de germes et pourraient être pathogènes pour l'homme.

En France, les travaux de Rinjard (73) ont montré la valeur du procédé, dont le danger pour l'homme n'a jamais été démontré de façon certaine; il est toutefois déplorable qu'au pays de Pasteur la délivrance de microbes vivants et virulents ne soit soumise à aucun contrôle.

En 1935, Ch. Dubois a commencé l'expérimentation d'un vaccin vivant mais avirulent et émulsionné dans un excipient gras (74 à 77).

Quatre années d'expérimentation ont montré la valeur du procédé sans danger pour l'homme et pour les animaux : il a, en outre, l'avantage de nécessiter une seule injection et de pouvoir s'employer indistinctement en milieux sain et contaminé, sur les bêtes vides ou pleines.

2° BRUCELLOSES HUMAINES. — La brucellose humaine envahit le monde entier. C'est une maladie longue et grave puisque sa mortalité atteint 6 et 7 %.

On peut dire que la France entière est contaminée par ce fléau (5.000 cas au moins par an), car il n'y a qu'en Bretagne où aucun cas n'a été mis en évidence.

Brucella Mélitensis est isolée le plus fréquemment dans nos départements; l'infection de l'homme se réalise par l'ingestion de lait cru ou de fromages frais et par contact des animaux atteints. Il faut signaler également les contaminations de laboratoire particulièrement fréquentes avec *Brucella Mélitensis*.

En France, aucun cas de transmission à l'homme par les souches porcines n'a été constaté (a) mais chaque jour on signale des brucelloses humaines dues à *Br. Abortus bovis*.

Elles seraient beaucoup plus nombreuses si nous n'avions pas l'habitude de faire bouillir le lait car aux Etats-Unis ou au Danemark, où le lait est recueilli dans des conditions remarquables de propreté, mais où il est consommé cru, la contamination par les souches bovines est très fréquente.

Si les brucelloses, en France, sont actuellement bien étudiées, elles le doivent à de nombreux chercheurs, vétérinaires ou médecins et nous nous excusons de rappeler dans notre bibliographie quelques noms seulement (78 à 84).

(a) Personnellement, j'ai cependant l'impression très nette d'avoir été contaminé par une souche d'origine porcine: ayant préparé de grandes quantités d'antigène pour intradermo-réaction sans ressentir le moindre trouble jusqu'au jour de l'utilisation d'une souche porcine: une brucellose du type ambulatoire se caractérisa par une agglutination au 1/400°.

a) *Diagnostic.* — Le polymorphisme des symptômes rend difficile le diagnostic clinique des Brucelloses humaines.

La forme classique est le type sudoro-algique qui se traduit par de la fièvre, le plus souvent à caractère ondulant, mais parfois aussi du type intermittent. Cette fièvre donne des sueurs profuses et des algies; l'état général est atteint et on note de l'asthénie et de l'amaigrissement. Enfin la splénomégalie et la constipation complètent généralement cette symptomatologie.

La durée de la maladie est de 4 à 6 mois et se trouve le plus souvent prolongée par une incapacité de travail. Ses complications sont très nombreuses et portent le plus souvent sur les articulations, le système nerveux et les divers viscères d'où des manifestations pleuro-pulmonaires hépatiques, rénales, glandulaires, cardiaques, etc...

A côté des formes septicémiques, avec hyperthermie, délire et stupeur, on rencontre des formes apyrétiques. Ces dernières présentent le type ambulatoire qui passe souvent inaperçu jusqu'au jour où l'affection s'extériorise par des accidents localisés : orchites, sciatiques, sacro-coccytes, hydarthroses.

Si nous ajoutons que toutes les fièvres à type ondulant ne sont pas mélitococciques et que la brucellose peut simuler certaines maladies infectieuses, comme le paludisme, la maladie de Bouillaud et même la tuberculose, on comprendra que le diagnostic clinique est parfois impossible.

C'est pourquoi nous consacrerons un chapitre spécial aux diagnostics de laboratoire et surtout aux méthodes allergiques que le praticien peut utiliser lui-même.

b) *Prévention et traitement.* — Pour éviter la fièvre de Malte, il est assez simple de ne pas s'exposer à la contagion, mais la contamination des professionnels (éleveurs, tueurs, vétérinaires) ne peut être évitée.

En 1920, Nicolle avait vacciné avec succès le personnel de son laboratoire et en s'inspirant de ses travaux, Dubois et Sollier, dès 1929, ont proposé un vaccin polyvalent (85).

A l'heure actuelle, près de 5.000 personnes ont été vaccinées : vétérinaires, médecins, hommes de laboratoire, bouchers, bergers, éleveurs, et cette large expérience a démontré la très réelle valeur du procédé (86 et 87).

Récemment, Lisbonne et ses collaborateurs ont essayé avec succès sur le cobaye un vaccin combinant l'action d'une souche avirulente et d'un antigène type Boivin (88).

Dans le traitement, les vaccins donnent également de très bons résultats. Ils agissent non seulement par leur spécificité, mais jouent dans certains cas le rôle de médication de choc.

Les sérums ont été employés dans certains pays, mais leur efficacité ne s'est pas révélée très grande alors que la crainte des accidents sériques est particulièrement ennuyeuse dans les maladies chroniques.

La chimiothérapie (Gonacrine, Trypaflavine, Septicémine, Electrargol, Quinby) a été largement employée ainsi que les arsénicaux qui ont certains succès à leur actif.

Bien entendu les fameuses « Sulfamides » (a) ont été utilisées dans le traitement des Brucelloses humaines et quel-

(a) Sait-on, qu'à certaines périodes, la consommation mondiale des « sulfamides » a dépassé le chiffre de 30 tonnes par mois.

ques communications semblent en faveur de leur efficacité. Mais aucun produit ne semble cependant s'être véritablement imposé d'autant plus qu'il est assez difficile de juger l'effet favorable d'une thérapeutique dans une affection où l'évolution clinique est si variable.

Personnellement — et sans doute par déformation professionnelle — la vaccinothérapie nous paraît la plus indiquée car son action est spécifique et l'expérimentation de Ch. Dubois et N. Sollier porte sur un très grand nombre de cas.

II. — TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE

DES BRUCELLOSES

La trop grande variété des symptômes et la nécessité d'une prophylaxie systématique rendent nécessaire l'utilisation d'un test biologique pratique pour le dépistage des Brucelloses.

1° *Hémoculture*. — La mise en évidence de la *Brucella* par les recherches bactériologiques constitue évidemment la preuve indiscutable de la maladie.

Des cultures peuvent être pratiquées à partir de l'urine, du lait ou des divers liquides de ponction (liquide céphalo-rachidien, pleural ou articulaire), certains même ont préconisé la ponction de la rate.

Toutefois c'est à partir du sang que l'on demande le plus souvent la culture des diverses *Brucella*.

a) *Le prélèvement* doit être effectué aseptiquement et en temps voulu. L'aseptie du prélèvement est grandement facilitée depuis qu'il existe dans le commerce des « vénules ». Ces seringues automatiques spéciales peuvent contenir du bouillon mais il est préférable de les choisir garnies d'un liquide anti-coagulant qui facilite suffisamment l'hémoculture cependant qu'une partie du sang peut être utilisée pour le séro-diagnostic.

Il est recommandé d'effectuer les prélèvements de sang en période d'hyperthermie bien que Lisbonne signale la positivité des hémocultures en période apyrétique.

b) *L'ensemencement* peut fort bien être pratiqué sur les milieux usuels selon la technique habituelle qui consiste à ensemer au maximum 1 cc. de sang pour 10 cc. de bouillon nutritif mais il convient que le pH du milieu soit bien ajusté au taux de 6,8 ou 7.

« *Brucella abortus* » ne se développant qu'en milieu carbonique à 10 %, il est préférable que l'un des tubes ensemencé puisse satisfaire à pareille condition.

Duffau conseille dans ce cas de placer le tube ensemencé à l'intérieur d'une éprouvette fermée dans laquelle on fait le vide avant d'y introduire les quantités nécessaires de gaz carbonique (89).

c) *Les résultats* se manifestent plus ou moins tardivement et nécessitent, bien entendu, l'identification du germe.

Parmi les divers expérimentateurs, certains conseillent de laisser les cultures à l'étuve pendant plus de six semaines ; ce sont ceux (notamment les vétérinaires) qui isolent assez fréquemment br. *Abortus*.

Par contre, d'autres, comme Duffau, isolant exclusivement br. *méilënsis*, constatent la présence du germe 440 fois au 3^e jour, 150 fois au 4^e jour et 60 fois seulement plus tardivement.

L'identification du microbe est assez facile, car, après avoir vérifié la morphologie du cocobacille à gram négatif, il suffit de pratiquer l'agglutination par un sérum spécifique.

Si l'on tient à déterminer le type exact de *Brucella* qui

est en cause, cette recherche doit être confiée à un laboratoire particulièrement spécialisé comme le Centre d'Études de Montpellier.

En résumé, les auteurs qui ont bien étudié la question comme Dubois et Sollier, Duffau et Lisbonne, trouvent que l'hémoculture est une technique à conseiller par suite de la sûreté qu'elle donne dans le diagnostic et ils en constatent les résultats très régulièrement positifs aux divers stades de la fièvre de Malte.

Personnellement, nous avons surtout l'expérience des Brucelloses animales où les résultats positifs sont beaucoup moins constants, par suite de la chronicité de la maladie. M. Rinjard d'ailleurs estime que cette méthode ne donne que 15 % de résultats positifs chez les bovins.

Pour en revenir à la médecine humaine et malgré la constance des résultats signalés plus haut, il est néanmoins préférable de pratiquer l'hémoculture dans les premières semaines de la maladie et au moment d'une hyperthermie.

2° *Séro-diagnostic de Wright.* — Cette méthode constitue le plus sûr moyen de diagnostic des Brucelloses et on doit regretter qu'elle ait été l'objet de critiques si nombreuses.

Le manque de standardisation des antigènes en provoquant maintes discordances dans les réponses des divers laboratoires a trop souvent ébranlé la confiance des cliniciens.

a) *Le choix de la souche* est le point essentiel dans la pratique du séro-diagnostic de Wright. Il convient de choisir une souche qui soit agglutinable par tous les sérums de sujets malades, mais qui reste inagglutinable par tout

autre sérum pathogène ou normal.

Cette souche doit de préférence être peu pathogène pour l'homme. Il est donc recommandé d'utiliser Br. Abortus.

Lisbonne conseille l'utilisation de la souche porcine de l'Institut Lister par suite de ses remarquables qualités (in 90).

C'est d'ailleurs celle que nous utilisons depuis de longues années, mais il est évident qu'il en existe d'autres capables de fournir un excellent antigène.

b) *La préparation de l'antigène* est simple. Il suffit de choisir des cultures de 48 heures de Brucella Abortus sur gélose et de les émulsionner en eau physiologique légèrement hypertonique (8,5 %).

Cette émulsion est stérilisée par chauffage à 60° et stabilisée par addition de formol à raison de 1 p. 1.000.

La concentration de l'antigène devrait être standardisée et Lisbonne propose comme étalon l'opacité d'une suspension aqueuse de terre d'infusoire à 1 p. 1.000 équivalant à 280° photométrique de l'appareil de Vernes.

En vieillissant l'antigène peut perdre ses propriétés. Il est donc préférable de le renouveler mensuellement et de pratiquer toujours un séro-diagnostic de contrôle à l'aide d'un sérum normal.

c) *La technique de la réaction* est classique ; il suffit de préparer des dilutions de sérum et d'antigène dans lesquelles le sérum suspect est réparti à des taux variables de 1/20° à 1/1.000°.

Pour éviter les phénomènes de « zones » ou « d'agglutinations paradoxales » assez fréquents en sérologie mélitococcique, il est nécessaire de préparer de nombreuses dilutions pour ne pas tomber dans une zone négative.

d) *La lecture des résultats* se fait au bout de 18 heures pendant lesquelles les tubes auront été laissés à la température du laboratoire.

Avec un antigène normalement préparé, un séro-diagnostic positif au 1/100° peut déjà être considéré comme spécifique des Brucelloses.

Nous avons pratiqué de très nombreux séro-diagnostic de contrôle avec des sérums provenant de sujets atteints de maladies autres que les brucelloses et ces derniers n'ont jamais fourni de résultats positifs à des taux dépassant exceptionnellement 1/20°.

Le séro-diagnostic de Wright constitue donc une remarquable méthode de diagnostic. Il devient assez rapidement positif au début de la maladie et redevient négatif en même temps que la guérison clinique.

Les laboratoires d'analyses médicales ont maintenant à leur disposition l'antigène remarquablement préparé par le Centre de Montpellier et il leur est donc facile de pratiquer impeccablement cette épreuve pourvu qu'ils prennent soin de renouveler fréquemment leur réactif.

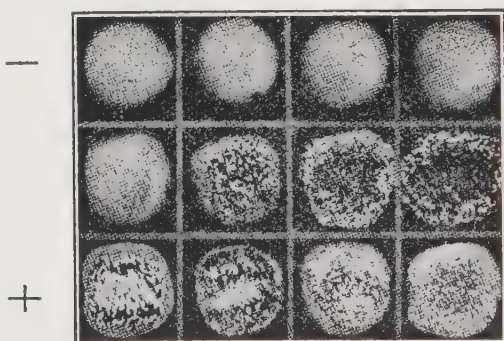
3° *Agglutination rapide de Huddleson*. — Aux Etats-Unis, le vétérinaire Huddleson a mis au point une méthode d'agglutination rapide qui est particulièrement intéressante, car elle peut, dans certains cas, être utilisée par le praticien lui-même.

De nombreux travaux étrangers (91-92) ont montré la valeur de cette réaction et récemment, en France, elle a fait l'objet de la thèse de M. Mir-Damadi, Docteur-Vétérinaire travaillant dans le Laboratoire de M. Rinjard à Alfort (93).

Le choix de la souche là aussi est primordial et la préparation de l'antigène est un peu spéciale, car il doit être extrêmement concentré d'une part et coloré en violet d'autre part pour faciliter la lecture des résultats.

La réaction se pratique sur une lame de verre où l'on fait le mélange d'une goutte d'antigène et d'une goutte de sérum à diverses dilutions.

Les réactions positives se manifestent en quelques minutes par une agglutination caractéristique facile à constater sur les photographies ci-dessous ; et selon de nombreux auteurs les résultats seraient le plus souvent comparables avec le séro-diagnostic de Wright.



Pour l'utilisation pratique de la méthode américaine de Huddleson, nous avons fait conditionner en 1934 un appareillage spécial qui pourrait rendre des services à la campagne en permettant au praticien de contrôler les réactions allergiques (94).

4° *Déviatiou du complément.* — Il est possible de diagnostiquer les Brucelloses par une réaction analogue à celle de Wassermann en utilisant bien entendu un antigène constitué par des souches de Br. Abortus ou Br. Mélitensis (95).

Le choix d'une bonne souche là aussi est essentiel et il faut tenir compte que certains antigènes ont un pouvoir empêchant assez marqué.

Nous avons essayé cette méthode en appliquant la technique de Calmette et Massol et elle nous paraît un contrôle utile du séro-diagnostic.

Au Danemark, nous l'avons vu utiliser à l'Institut de Copenhague et la valeur de ses résultats était affirmée par des hommes de laboratoire qui en effectuaient plusieurs centaines chaque semaine.

Le diagnostic des Brucelloses est assez exceptionnel pour un laboratoire non spécialisé et il est bon à cette occasion de multiplier les réactions afin d'offrir le plus grand nombre de garanties.

5° *Réaction de Flocculation.* — Récemment en collaboration avec Laurent, le Docteur Jullien appliqua la floccu-

lation de Dujarric de la Rivière au diagnostic des Brucelloses (96).

Cette réaction utilise l'antigène spécifique, la teinture de benjoin et le sérum du malade ; la lecture des résultats se fait après 12 ou 24 heures d'étuve.

Nous avons cherché à contrôler la valeur de ce procédé ; nos rares essais de comparaison entre le séro-diagnostic et la séro-floculation n'ont pas été en faveur de cette dernière.

Dans l'impossibilité de renouveler nos réactifs, nous n'avons pas continué cette expérimentation, mais il ne semble pas que cette technique se soit imposée.

D'autres réactions de floculation ont été exposées assez récemment, mais leur valeur n'est pas démontrée.

Le principal avantage de ces diverses méthodes serait de permettre une standardisation facile dans la préparation des antigènes.

6° *Intradermo-réaction d'E. Burnet*. — Réaction allergique, l'épreuve intradermique a l'avantage de pouvoir être utilisée par le praticien lui-même.

C'est Burnet le premier qui, en 1922 (97) constata chez les sujets atteints de Brucellose la réaction typique due à l'injection intradermique du filtrat de cultures de br. *Melitensis* ou « Mélitine ».

Cet auteur préconisa cette méthode pour le diagnostic de la maladie et de très nombreux expérimentateurs ont confirmé depuis la valeur du procédé.

a) *Préparation de la « mélitine »*. — Une souche sélectionnée de Br. *Melitensis* (ou br. *Abortus*) est cultivée sur bouillon pendant 20 jours, puis elle est filtrée sur bou-

gie L 3. C'est ce filtrat qui constitue la « mélitine » (ou abortine).

Ce réactif doit être manipulé aseptiquement et sa durée de conservation n'excède pas deux mois.

Pour éviter les pseudo-réactions, dues aux protéines du bouillon de viande, Dubois et Sollier conseillent de cultiver la *Brucella* sur un milieu nutritif à base de placenta humain.

Pour la préparation d'un réactif analogue, Goult et Huddleson broient les corps microbiens et utilisent une émulsion de nucléo-protéines de *Brucella*.

Nous avons vu, par ailleurs, que pour l'intradermo-réaction en médecine vétérinaire, Dubois et Sollier préféraient au filtrat une émulsion microbienne stérilisée.

b) *Technique de l'intradermo-réaction.* — L'inoculation sera pratiquée dans le derme à la face antérieure de l'avant-bras et à son tiers moyen : on injecte 1/10^e de cc. et l'on sait qu'une intradermo-réaction correcte doit se caractériser immédiatement par la formation d'une papule.

Sur l'avant-bras du côté opposé on pratiquera une injection témoin avec du bouillon d'origine.

Selon les travaux originaux de Burnet (98) les signes qui caractérisent les réactions positives sont, par ordre d'importance : l'œdème, la douleur et la rougeur. Seul ce dernier symptôme peut manquer.

Dubois et Sollier considèrent la réaction positive lorsqu'elle se manifeste par les caractères suivants, plus ou moins accentués, selon qu'elle est forte ou très forte, moyenne ou faible (99).

Forte : œdème très accentué en verre de montre, pouvant atteindre de 4 à 6 cm. environ de diamètre, douleur assez vive, rougeur de dimension correspondant à l'œdème. Durée des signes locaux : 2 à 6 jours environ.

Occasionnellement, la réaction peut être *très forte*. Elle se traduit alors par des signes locaux au moins aussi accentués que ceux observés dans la réaction forte, mais accompagnés de symptômes généraux pendant 24 à 36 heures au maximum (hyperthermie 1 à 2°, céphalée, asthénie). Durée des signes locaux : de 1 à 2 semaines.

Moyenne : œdème très net de 3 à 4 cm. de diamètre, avec douleur légère et rougeur de dimension correspondant à l'œdème. Durée des signes locaux : 1 à 3 jours environ.

Faible : œdème léger, mais net, de 1 à 2 cm. de diamètre avec légère douleur et rougeur correspondant aux dimensions de l'œdème. Durée des signes locaux : de 3 à 4 heures à 24 heures.

La réaction est considérée comme *douteuse*, lorsqu'elle se traduit par une légère sensibilité et de la rougeur pouvant atteindre 1 à 1 cm. 5 de diamètre, mais sans œdème appréciable.

c) *Interprétation des résultats.* — E. Burnet a expérimenté sa réaction sur un grand nombre d'individus. Il en a constaté la positivité chez 54 malades tout en vérifiant la spécificité de la méthode constamment négative chez 44 sujets normaux, 8 tuberculeux, 2 typhiques, 7 paludéens et 11 sujets atteints de maladies diverses.

La réaction intradermique selon Burnet serait plus

sûre, plus spécifique et même plus précoce que le séro-diagnostic de Wright.

Toutefois, Burnet reconnaît que la réaction positive peut être encore très faible au début de la maladie et, par contre, persister plusieurs mois après la guérison.

Appieto, Olmer (100), Wédél, Giraud et Puech confirment en général les conclusions de Burnet.

En 1931, Dubois et Sollier constatent la spécificité parfaite de la réaction mais la trouvent très tardivement positive puisque le séro-diagnostic (8 fois) et l'hémoculture (2 fois) se sont révélés plus précoces.

Par contre, selon la constatation de ces auteurs, la réaction de Burnet pourrait dans une certaine mesure être un élément de pronostic de Brucellose ; elle serait particulièrement précoce dans les formes peu graves.

Les réactions intradermiques positives peuvent se manifester même plusieurs années après la guérison, ce fait est très intéressant au point de vue du diagnostic rétrospectif, mais la persistance des réactions positives peut fausser le diagnostic et le Professeur Lisbonne « reproche aux méthodes allergiques de déceler une imprégnation brucellique et non une affection active, d'où des erreurs de diagnostic possibles ».

La plus récente communication sur la valeur de l'intradermo-réaction est celle de Duffau. Au congrès d'Oran, en l'étudiant comparativement au séro-diagnostic et à l'hémoculture, il a montré sa spécificité rigoureuse et sa précocité suffisantes dans 19 cas sur 21.

Avec lui, nous pouvons conclure que l'intradermo-réaction mérite parfaitement sa place dans les épreuves de diagnostic des brucelloses.

III. — ESSAIS DE DIAGNOSTIC DES BRUCELLOSES

PAR PERCUTI-REACTION

(Etude personnelle)

Dans le dépistage des Brucelloses, il est primordial que le praticien puisse opérer lui-même le diagnostic et il est regrettable que l'intradermo-réaction à la mélitine ne soit pas rentrée dans les mœurs médicales.

Dubois et Sollier attribuent l'abandon à peu près général de l'épreuve intra-dermique au manque de conservation de la mélitine et à l'interprétation trop difficile de la réaction.

Nous avons donc été tentés d'appliquer aux Brucelloses une méthode de percuti-réaction d'autant plus que, sans avoir pu retrouver jamais la référence exacte, nous nous souvenons avoir lu les essais d'un auteur étranger qui utilisait en friction une pommade à base de lanoline renfermant en très forte proportion des corps microbiens tués de Br. Abortus et une certaine quantité de verre pilé pour favoriser la pénétration du réactif.

Personnellement, nous avons décrit notre technique de percuti-réaction dans les *Archives Internationales des*

Brucelloses (101), et nous en avons montré la spécificité au récent Congrès d'Oran (102).

1° *Préparation d'un antigène brucellique spécial
pour percuti-réaction*

Notre expérience de la tuberculine devait naturellement nous conduire à la préparation d'un antigène brucellique extrêmement concentré.

a) *Choix des souches.* — En étudiant les diverses épreuves de laboratoire pour le diagnostic des *Brucelloses*, nous avons constaté l'importance primordiale de la souche microbienne utilisée. Il en est de même pour la percuti-réaction et si nos premiers essais ont été infructueux, ils le devaient seulement au pouvoir antigénique insuffisant des souches employées.

La première qui nous ait donné satisfaction est une souche porcine de l'Institut Lister et nous y avons adjoint maintenant deux souches (*B. Abortus Bovis* et *B. Melitensis*) qui nous ont été très aimablement fournies par le service de la Standardisation de la S.D.N. à Copenhague.

b) *Milieux de cultures.* — Afin de favoriser la concentration ultérieure, le bouillon de viande utilisé doit être additionné de glycérine au taux de 6 %.

Bien qu'au cours de nos essais nous n'ayons jamais constaté de pseudo-réactions, il serait néanmoins intéressant d'utiliser un milieu synthétique ou bien le milieu à base de placenta humain préconisé pour l'épreuve intra-dermique par Sollier.

c) *Age des cultures.* — C'est au bout de 20 jours d'étuve qu'il convient de stériliser les cultures.

d) *Stérilisation des cultures.* — Jusqu'à maintenant et avec un égal succès, nous avons utilisé trois modes de stérilisation : chauffage à 70°, addition de formol à 3/1.000°, filtration sur bougie L 3.

e) *Concentration de l'antigène pour percuti-réaction.* — En vue de la percuti-réaction, il est utile que l'antigène se présente sous la forme bien banale d'une pommade, mais il est toutefois indispensable que cet état pâteux s'obtienne sans addition d'aucun excipient.

Après stérilisation, les cultures en bouillon glycérimé sont donc concentrées par un appareil spécial jusqu'à réduction au 1/50° environ du volume initial.

f) *Conservation de l'antigène.* — Par suite de sa concentration en milieu glycérimé, notre antigène pour percuti-réaction se trouve à l'abri de toutes souillures et sa conservation devient très longue puisque nous avons utilisé avec succès des réactifs préparés 8 mois auparavant.

En résumé, nous utilisons actuellement pour la percuti-réaction deux antigènes constitués par la concentration au 1/50° des cultures de 20 jours obtenues sur bouillon glycérimé.

Les trois souches utilisées sont les mêmes (B. Abortus suis, B. Abortus bovis, B. Mélitensis) la seule différence réside dans leur mode de stérilisation. Dans l'un, les cultures totales sont traitées par le formol à 3/1000; dans l'autre, les cultures sont stérilisées par filtration sur bougie il s'agit donc pour ce deuxième antigène d'une mélitine glycérimée et concentrée.

Spécificité de la Percuti-Réaction dans le Diagnostic des Brucelloses

NOM DES SUJETS	AFFECTIONS DIVERSES	RÉSULTATS DES PERCUTI-RÉACTIONS
Vil. Juan.....	Typhique	Négatif
Bli. Valentin	»	»
Bar. Juan	»	»
Gout. Louis	»	»
Fra. Thomas	Oreillons	»
Pes. Robert	»	»
De C. Florine.....	»	»
Pet. Aluri	»	»
Bac. Marie-Louise	Scarlatine	»
Four. Yvonne	»	»
Rib.-Bert. José	»	»
Seb. Ben.	»	»
Font. Louis	»	»
Per. Marcelline	»	»
Gao. Zora	»	»
All. Josette	»	»
Marc. Georgette	»	»
Di Ru. Gilberte.....	»	»
And. Josette	»	»
Rey. Paul	Tuberculeux	»
Cel. René	»	»
Bes. Marius	»	»
Tom. Joanny	»	»
Ru. Aimé	»	»
Rus. Em.	»	»
Tav. Jean	»	»
Cab. José	»	»
Mig. Jean	»	+
Garal.	»	?
Fon. A.	»	Négatif
Comb. G.	»	»
Di. F.	»	»
Serv. A.	»	»
Mail. A.	»	»
Zar. A.	»	»
Cal. Jacques	Sujet sain	»
Mer. Suzanne	»	»
Nor. Pierre	»	»
Iur. Yves	»	»
Dor. Jeanne	»	»
Tan. Paul	»	»
Air. Emile	»	»
Bol. Jean	»	»
Atr. Roger	»	»
Mon. Marinette	»	»
Bur. Antoinette	»	»
Sez. Henriette	»	»
Rol. André	»	»
Mac. Albert	»	»
Cro. Jeanine	»	»
Dus. François	»	»
Mar. Marius	»	»
Vid. Lucien	»	»
Par. Roland	»	»
Mas. Georges	»	»
Fab. Gabriel	»	»
Zor. Antoine	»	»

2° *Technique du diagnostic des brucelloses
par percuti-réaction.*

Comme pour l'épreuve à la tuberculine, la percuti-réaction s'effectue sur la région sternale après décapage de la peau. Ce premier temps peut s'effectuer soit à l'éther, soit à l'aide d'un tampon de gaze sec.

Pour la percuti-réaction, on dépose sur la peau une goutte d'antigène concentré et, à l'aide du doigt, on pratique une friction de 30 secondes environ pour assurer la bonne pénétration du réactif.

Les réactions positives se manifestent dans les 2 à 4 jours qui suivent par une éruption caractéristique alors que la peau reste sans changement en cas de négativité.

3° *Expérimentation du diagnostic des brucelloses
par percuti-réaction*

Il est très difficile dans une ville comme Lyon où les Brucelloses sont rares d'expérimenter une méthode de diagnostic de ces maladies. Mais il nous a été facile de nous assurer de la spécificité de la réaction et les résultats de cette expérience sont consignés sur le tableau ci-contre.

a) *Spécificité de la réaction.*

Sur des sujets sains, 22 percuti-réactions ont été effectuées et ont été constamment négatives.

La négativité de la percuti-réaction a été également constatée dans diverses maladies contagieuses, notamment 4 cas de fièvre typhoïde, 11 de scarlatine, 4 cas d'oreillons (Dr Bertoye).

Enfin chez des enfants tuberculeux, si propices aux pseudo-réactions, 18 malades, dont plusieurs en état

par Percuti-Réaction

N° DES OBSERVATIONS	SÉRO- DIAGNOSTIC	INTRA-DERMO- RÉACTION	PERCUTI- RÉACTION
1	+++		++
2		+++	?
3	—	—	—
4	—		+
5	—	—	—
6	++		++
7	+		+
8	++		++
9	—	++	+
10	+++		++
11	++		++
12	—	—	—
13	—		—
14	++		+
15	++	++	++
16	—	—	—
17	+++		+++
18	+++		++
19	—	—	—
20	++		+++
21	++		+

Le nombre de + correspond à l'intensité de la percuti-réaction ou de l'intra-dermo-réaction.

Pour le séro-diagnostic $+ = 1/80^e$

$$++ = 1/160^e$$

+++ = 1/200^e au moins.

d'hyperthermie, ont présenté des percuti-réactions négatives (Pr Berheim).

Un seul cas a été positif, mais il s'agissait d'un enfant tuberculeux qui présentait une intradermo-réaction à la mélitine très positive et dont la contamination était due sans doute au séjour prolongé qu'il fit dans une ferme en contact avec un troupeau de chèvres.

Puisqu'il est possible d'expliquer ce seul cas discordant, la négativité constante de la percuti-réaction dans cette première statistique permet déjà d'en garantir la spécificité.

b) *Valeur de la percuti-réaction.*

Il restait à nous assurer de la valeur de la percuti-réaction comparativement à l'épreuve intradermique et aux diverses réactions de laboratoire. Nos recherches dans ce domaine sont consignées dans le tableau ci-contre.

Sur 21 cas suspects de Fièvre de Malte, la percuti-réaction a été trouvée 14 fois positive.

Les percuti-réactions négatives correspondaient toujours à des séro-diagnostic négatifs. Par contre, elle s'est montrée deux fois positive lorsque le séro-diagnostif de Wright était négatif ; il s'agissait alors de malades cliniquement guéris chez lesquels l'I.D.R. eut été positive.

C'est d'ailleurs à l'épreuve intradermique que la percuti-réaction est la plus comparable ; elle semble toutefois se montrer moins sensible puisque nous l'avons trouvée négative sur un sujet guéri depuis longtemps, qui présentait une I.D.R. très positive (a).

(a) La percuti avait été effectuée avec notre antigène formolé, moins sensible sans doute que celui stérilisé par filtration.

Notre premier cas positif a été obtenu sur un convalescent, le Docteur Senthile, chef de travaux à l'Ecole Vétérinaire de Lyon.

Nous sommes très heureux de le remercier ici pour son obligeance, car son sternum complaisant nous a permis de nous rendre compte de la valeur comparée des divers antigènes.

Dans son hôpital de Joyeuse le Docteur Jullien qui nous a fait l'honneur de nous demander un article pour ses « Archives Internationales des Brucelloses », a pu pratiquer un assez grand nombre de percuti-réactions que nos laboratoires contrôlaient par le séro-diagnostic.

En compagnie du Docteur Teston d'Entraigue, nous nous sommes rendus dans un pittoresque village de l'Ar-dèche où une épidémie de Brucelloses s'était déclarée l'année précédente.

En U.R.S.S., à l'hôpital Botkin, de Moscou, nous avons pu pratiquer de nombreuses percuti-réactions sur des malades cliniquement atteints de Brucelloses.

La variété des téguments que l'on constate dans les races variées qui composent les républiques soviétiques rendait cette expérimentation très intéressante.

Malheureusement, pour une question de visa que nous n'avons jamais bien comprise, notre séjour a été brusquement interrompu et nous n'avons pu lire nous-mêmes les résultats de ces percuti-réactions.

Les médecins russes n'ayant pas le droit de nous écrire directement, nous attendons depuis 9 mois que la V.O. K.S. nous les communique.

Dans l'impossibilité de pratiquer nous-même les percuti-réactions, nous avons correspondu avec divers médecins que nous sommes très heureux de remercier ici de leur obligeance :

Docteur Boiteux, Docteur Cambessédès, Docteur Dufau, Docteur Lefebvre, Docteur Soial, Docteur Sollier, Docteur Verdan.

N.-B. — Au moment où cette étude était sous presse, nous nous sommes rendus à Aix-les-Bains, sur la demande du Docteur Jullien, à sa conférence sur les rapports des brucelloses et des rhumatismes.

Cette manifestation a mis particulièrement en évidence l'intérêt de notre percuti-réaction pour le dépistage rétrospectif de ces affections.

A l'hôpital d'Aix, le Docteur Jullien a, en effet, pratiqué plusieurs percuti-réactions avec notre antigène brucellique et, dès la quatrième épreuve, il constatait une percuti-réaction très positive chez un malade où un mal de Pott bacillaire avait été diagnostiqué.

L'étude des radiographies et l'histoire clinique de ce malade ont montré aux médecins traitant qu'il s'agissait d'une affection d'origine brucellique révélée par la percuti-réaction et confirmée d'ailleurs par l'épreuve intra-dermique à la mélitine.

IV. — UTILITE ET INTERPRETATION

DES DIVERSES METHODES DANS LE DIAGNOSTIC

BIOLOGIQUE DES BRUCELLOSES

Les opinions contradictoires de certains auteurs et la complexité de certaines techniques sont bien déroutantes pour l'observateur impartial, mais devant l'incertitude du diagnostic clinique, il est indispensable que les médecins puissent interpréter avec précision les diverses réactions biologiques pour le diagnostic des Brucelloses.

L'HÉMOCULTURE devra toujours être tentée car elle apportera la preuve indiscutable de la maladie et l'identification du germe par des gens compétents rendra service aux épidémiologistes.

Le SÉRO-DIAGNOSTIC de Wright méthode très sûre et suffisamment précoce constitue la meilleure épreuve de diagnostic d'autant plus que le même échantillon de sang pourra servir à la classique séro-réaction de Widal.

L'INTRADERMO-RÉACTION, épreuve de valeur incontestée, reste positive chez les sujets cliniquement guéris; elle a l'inconvénient de nécessiter un expérimentateur averti.

La PERCUTI-RÉACTION est la plus récente de ces diverses épreuves et nous sommes bien mal placés pour la préconiser.

Il nous est cependant permis de constater que dans la plupart des cas ce sera la seule épreuve à laquelle le médecin pourra avoir recours par suite de sa simplicité.

Spécifique des brucelloses, la percuti-réaction a une indiscutable valeur diagnostique. La longue conservation de son antigène et la facilité de sa technique incitent donc à en poursuivre l'expérimentation.

CONCLUSIONS

CONCLUSIONS

I. — D'exécution simple et d'interprétation facile, la percuti-réaction est la plus séduisante des méthodes de dépistage.

II. — La percuti-réaction à l'aide d'une tuberculine spéciale s'est révélée aussi sûre et sensible que la cuti-réaction.

III. — La technique de percuti-réaction que nous proposons comme test de l'immunité anti-diphtérique pourra être substituée à la classique méthode de Schick si sa valeur se révèle comparable.

IV. — Spécifique des Brucelloses, la percuti-réaction à l'aide de notre antigène constitue, pour ces maladies, la plus pratique des méthodes allergiques.

Vu : *le Doyen,*

J. LÉPINE

Le Président de la Thèse,

G. MOURIQUAND

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

A. LIRONDELLE

BIBLIOGRAPHIE

Au cours de la rédaction trop rapide de ce travail, nous n'avons pu utiliser toute la bibliographie que nous avons rassemblée et nous nous excusons de ne pouvoir citer les auteurs qui ne sont pas mentionnés au cours de cette thèse.

Il nous est agréable de remercier ici les « Fichiers du Monde Médical » dont la magnifique organisation est une source inépuisable de renseignements pour les cliniciens et les hommes de laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. SAENZ A. et COSTIL L. — *Diagnostic bactériologique de la Tuberculose* (Masson).
2. LOEWEINSTEIN. — *Importance clinique de la Bacillémie.*
3. *Expériences de contrôle sur la méthode de Loewenstein.* Rapport de la section d'hygiène de la Société des Nations.
4. ARMAND-DELILLE et VIBERT J. — Le diagnostic bactériologique de la tuberculose pulmonaire des jeunes enfants par l'examen du contenu gastrique. (*Bull. de l'Acad. de Méd.*, 15 mars 1927, n° 47; *Presse Méd.* 30 mars 1927; *Acad. de Méd.*, 23 déc. 1930.
5. POULSEN, JENSEN et HUSTED. — Démonstration of tubercle bacilli in small children with pulmonary tuberculosis. (*Am. Journ. of dis. of Child.*, mai 1929, n° 37.)
6. DUFOURT A. — Recherches bactériologiques dans les états de primo-infections tuberculeuses chez l'enfant. (*Soc. Méd. des Hôp. de Lyon*, 16 mars 1937.)

7. ZEYLAND. — *Zeitsch. f. Tuberkulose*, 1933, 67.
8. LESNÉ, SAENZ, DREYFUS-SÉE (Mlle), LAUNAY et SALENBIEZ.
— Importance de la recherche du B. K. dans le contenu gastrique. Dédutions concernant le pronostic et la prophylaxie de la tuberculose chez l'enfant. (*Bull. Soc. Médic. des Hôp. de Paris*, 10 févr. 1936.)
9. MARTIN (Mme). — Documentation concernant la valeur clinique et l'application pratique des réactions tuberculiniques. *Thèse Lyon*, 1938.
10. MARTINON J. — Les réactions cutanées à la tuberculine dans la pratique journalière. *Thèse Lyon*, 1938.
11. VON PIRQUET. — Comptes rendus de la Société Médicale de Berlin. (*Berlin, Klin. Woch.*, 20 mai 1907, p. 865 et 905.)
12. VALLÉE — (*Ac. des Sciences*, 3 juin 1907 et 17 juin 1907, *Soc. Biol.*, 12 juillet 1907).
13. LIGNIÈRES J. — *Acad. des Sciences*, 21 et 28 octobre 1907.
14. MORO E. — *Munch. Med. Woch.*, 7 janvier, 4 févr. 1908.
15. HAMBURGER. — *Die Tuberkulose des Kindesalters. Leipzig und Wien. Franz Denticke*, 1932.
16. LAUTIER. — *Soc. de Biol.*, 18 janv. 1908.
17. KFOURI. — Timbre-test pour cutiréaction. (*Soc. de Méd. de Paris*, 11 décembre 1931.)
18. PRIENTE. — Epidermoréaction à la tuberculine en dermatologie. (*Bruxelles Médical*, 17 novembre 1935.)
19. GROZIN M. — The tuberculin patch test. (*Amer. Journal of diseases of children*, juillet 1933.)
20. LAFITE-DUPONT et MOLINIER. — La rhinoréaction. (*Presse Méd.*, 1909, p. 180.)
21. CALMETTE et GUÉRIN. — *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1908, p. 164
22. MANTOUX C. — Intradermoréaction à la Tuberculine et son interprétation clinique. (*Presse Médicale*, 1910, p. 10.)
23. TÉDESCHI et LORENZI. — *La Pediatria*, septembre 1908.

24. PÉHU. — Les réactions locales et générales à la tuberculine chez l'enfant. (*Arch. de Méd. des Enfants*, 1912, p. 481.)
25. BERTOYE, MÉRIEUX et BRUN. — Réactions percutanées à la tuberculine, méthode de Hamburger. La méthode et ses résultats. (*S. M. H. L.*, 20 mars 1934, *Lyon Médical*, t. II, p. 169.)
26. BERNARD, L., DEBRÉ et LELONG. — La cutiréaction chez les enfants vaccinés au B. C. G. (*Ac. Méd.*, 23 octobre 1928.)
27. FINZI G. — Nouvelles données sur la biologie du B. tuberculeux, les exotuberculines éteintes. (*Profilsasi*, 1934, p. 121.)
28. BOQUET et BRETEY. — Développement de la tuberculine dans les cultures en milieu glycérimé et en milieu Sauton. (*Bull. de Soc. Biol.*, 1933, p. 1412.)
29. MÉRIEUX M. — Nouvelles Tuberculines, Bourgelat, 1933.
30. MÉGEMONT A. — Des différentes tuberculines. Leur emploi dans le diagnostic de la tuberculose bovine. (*Thèse vétérinaire*, 1936.)
31. MÉRIEUX Ch. — Préparation d'une tuberculine spéciale pour percuti-réaction. (*Soc. de Pathologie comparée*, 10 janvier 1939.)
32. MOURIQUAND, WEILL (Mlle), MARTIN (Mme). — Sur la percutiréaction à la tuberculine chez l'enfant. (*Soc. Méd. des Hôp. Lyon*, 26 nov. 1935.)
33. IMBERT, KOECHLER et JAQUIS. — La percutiréaction à la tuberculine chez l'enfant de 1 à 15 ans.
34. CHEVALLIER Robert. — La réaction percutanée de Moro-Hamburger pratiquée avec une nouvelle tuberculine remplacera-t-elle la cutiréaction de Von Pirquet en médecine infantile. (*Thèse Paris*, 1938.)
35. DREYFUS-SÉE G. — Valeur de la percutiréaction, son intérêt dans le dépistage de la tuberculose des collectivités infantiles. (*Soc. de Pédiatrie de Paris*, 5 juillet 1938.)
36. LESNÉ, RADENAC et LÉVY Maurice. — La percutiréaction à la tuberculine. (*Soc. de Pédiatrie de Paris*, 5 juillet 1938.)

37. MARYSSAEL. — *Société Médicale Bruxelles*, mai 1939.
38. U. R. S. S. — Institut Pédiatrique de Leningrad. —
Rapport de la V. O. K. S.
39. DEBRÉ, PARAF et DAUTREBANDE. — La période antialler-
gique de la tuberculose. (*Ann. de Méd.*, 1921, t. VII,
p. 122 et t. IX, p. 454.)
40. WALLGREN. — Considération sur la typhobacilliose. (*Rev.*
Belge de Puériculture, juin 1937, n° 2.),
41. HAMBURGER. — *München Med. Woch.*, n° 14, 3 avril
1931.
42. ZOELLER (Chr.). — *Traité de Microbiologie* (établi sous
la direction de Nattan-Larrier.)
43. LESNÉ, BOUTELLIER et LANGERON. — Réaction de Schick
chez le nouveau-né et chez la mère. (*La Pédiatrie*,
15 juin 1925.)
44. MEERSSEMAN et FRIESS (E.) et RENARD (P.). — La diph-
térie chez les sujets à réaction de Schick négative.
Réaction de Schick et taux antitoxique des hu-
meurs. (*C. R. Séances de la Sté de Biol. de Lyon*,
séance du 19 déc. 1932, n° 2, 20 jenv. 1933.)
45. NÉLIS P. — Au sujet des variations saisonnières de la
réaction de Schick. (*C. R. Sté de Biol.*, n° 6, t. CXII
p. 546.)
46. FEUILLIE (P.), BLANCARDI (Ch.) et THIRY (P.). — Une
réaction de Schick négative répond-elle de l'ave-
nir. (*Sté de Méd. Militaire Française*, n° 3, mars
1934.)
47. ZOELLER. — L'anatoxi-réaction ou protéino-réaction ré-
vélatrice de l'allergie diphtérique. (*Bull. Soc. Hôp.*
juillet 1924.)
48. REH (Th.). — Cuti-réaction à la toxine diphtérique.
(*Schweizer Med. Woch.*, 1934, n° 22.)
49. REH (Th.). — Cuti-réaction à la toxine diphtérique. Va-
leur et indications. (*Ann. Inst. Pasteur*, 55 : 380-
383, sept. 1935.)
50. ANDRIEU (G.) et TOURNIAIRE (A.). — Cuti-réaction à la
toxine diphtérique. (*C. R. Soc. Biol.*, 119 : 35-36,
sept. 1935.)

51. NÉLIS (P.) et VANDENHOUTEN (P.). — Cuti-réaction à la toxine diphtérique. (*C. R. Soc. Biol.*, 121 : 524-526,
52. TRON (G.) et TORELLI (A.). — Réaction de Schick, réaction de Reh. Tests de réceptivité et d'immunité vis-à-vis de la diphtérie. (*La Presse Médicale*, n° 12, du 10 fév. 1937.)
53. RUELLE. — *Bruxelles Médical*, 1936.
54. NÉLIS (P.). — Nouvelles données sur la cuti-réaction à la toxine diphtérique. (*C. R. Sté de Biol.*, n° 8, t. CXXX, p. 697.)
55. LOISEAU et PHILIPPE. — Préparation de la toxine diphtérique. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*.)
56. MÉRIEUX (Ch.). — Percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée. (*Bourgelat*, n° 39-40, avril 1939.)
57. BESREDKA (A.). — Etude sur l'immunité locale dans la diphtérie. *Ann. de l'Inst. Pasteur*, avril 1932, t. XLVIII, p. 438.)
58. MÉRIEUX (Ch.). — (Note présentée par M. le Professeur Bernheim). La percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée remplacera-t-elle l'intra-dermo-réaction de Schick ? (*Sté Méd. des Hôp. de Lyon*, Séance du 13 juin 1939.)
- 58 bis. BESREDKA (A.). — De la vaccination antidiphtérique par la voie cutanée. (*An. de l'Inst. Pasteur*, mai 1931, t. XLVI, p. 542.)
59. REH Th. — L'immunisation antidiphtérique expérimentale au moyen de toxine diphtérique appliquée par scarification cutanée. (*Revue d'Imm.*, sept. 1937, n° V.)
60. ZOELLER. — La réaction de Schick. Sa technique, sa valeur. (*Monde Médical*, 1^{er} sept. 1924, p. 583.)
61. DUBOIS (Ch.). — Etude sur la fièvre de Malte dans le Gard. (*Rapport au Conseil général*, 11 août 1910.)
62. VIOLLE (H.). — La fièvre ondulante (Masson).
63. EVANS (A.). — U. S. Public Health Service Washington, vol. 38, n° 34, p. 1943-1948.)

64. TAYLOR (R.-M.), LISBONNE (M.) et VIDAL (L.-F.). — La fièvre ondulante en France, d'après les investigations du Centre de Recherches sur la fièvre ondulante de Montpellier. (*Le Mouvement Sanitaire*, fév. 1935, n° 130.)
65. NICOLLE (Ch.). — Premier Congrès International d'Hygiène méditerranéenne, Marseille, 20, 25 septembre 1932, p. 597.
66. DUBOIS (Ch.) et SOLLIER (N.). — Diagnostic expérimental de la mélitococcie ovine et caprine par la recherche des réactions d'allergie. (*C. R. de l'Ac. des Sciences*, 1935, p. 722.)
67. DUBOIS (Ch.). — Spécificité de la réaction comme procédé de diagnostic de la mélitococcie ovine. (*C. R. de l'Ac. des Sc.*, 1933.)
68. DUBOIS (Ch.) et BRUNE. — Diagnostic expérimental de l'avortement épizootique des bovidés par la recherche des réactions d'allergie. (*Soc. de Biol.*, 1^{er} avril 1933.)
69. DUBOIS (Ch.). — *Société de Biol.*, 1^{er} avril 1933.
70. ROSSI (P.) et SAUNIÉ. — *Sté de Biologie*, 13 janv 1934.
71. DUBOIS (Ch.). — Possibilités de diagnostic simultané de la tuberculose et de l'avortement épizootique des bovidés par la recherche des réactions d'allergie. (*Soc. de Biol.*, 10 mars 1937.)
72. MÉRIEUX (Ch.). — Actualité des Brucelloses. (*Bourge-lal*, 1934.)
73. RINJARD (P.). — La brucellose (Conférences aux journées vétérinaires). (*Recueil d'Alfort*, t. CIX, n° 11, 1933, p. 681.)
74. DUBOIS (Ch.). — Innocuité chez les brebis, la chèvre et la vache du vaccin préparé avec des germes vivants, virulents, de *Brucella Abortus Suis* en émulsion dans un excipient irrésorbable. (*Ac. Vétérinaire de France*, séance du 27 janvier 1938.)
— *Bulletin de l'Ac.*, t. XI, n° 1, 128.

75. DUBOIS (Ch.). — Traitement de la brucellose animale par les germes vivants, avirulents, de Bruceïa Abortus Suis en émulsion dans un excipient irrésorbable. *Acad. Vétérinaire de France*, séance du 2 juin 1938, t. XI, n° 6.
76. DUBOIS (Ch.). — Le vaccin en excipient irrésorbable, préparé avec des germes vivants, avirulents, de Bruceïa Abortus Suis, paraît susceptible de préserver de la Brucellose, la brebis, la chèvre et la vache indemnes de cette maladie. (*Acad. Vét. de France*, séance du 7 avril 1938, bulletin t. XI, n° 4.)
77. DUBOIS (Ch.). — Essais de vaccination préventive contre la Brucellose ovine. (*Sté de Biol.*, séance du 20 juillet 1935, t. CXIX, p. 1340.)
78. MAGALLON. — *Revue générale de Médecine Vétérinaire*, 15 août 1930.
79. FABRE. — *Société de Biol.*, séance du 21 mars 1936, t. CXXI, p. 1138.
80. AUBLANT, DUBOIS, LAFENÈTRE et LISBONNE. — 12^e *Congrès d'Hygiène*. Paris 1925.
81. LAURENT. — Thèse de doctorat vétérinaire, Lyon, 1928
82. JULLIEN (J.). — Sur l'éclosion et la diffusion des Brucelloses épizootiques. (*Centre d'Etudes des Brucelloses de Joyeuse* (Ardèche).
83. CRUVEILHIER, LECLAINCHE et RINJARD (P.). — Office International des Epizooties, 1931.
84. LISBONNE (M.). — Considérations sur l'épidémiologie et la prophylaxie de la fièvre ondulante en France. (*Bulletin de l'Acad. de Méd.*, t. 119, n° 19, séance du 17 mai 1938.)
85. DUBOIS (Ch.) et SOLLIER (N.). — La vaccination préventive de l'homme contre le Mélitensis, paraît être une nécessité dans les milieux infectés de mélitococcie animale. (*Acad. de Méd.*, 1^{er} avril 1930.)
86. SOLLIER (N.) et DUBOIS (Ch.). — Premiers résultats de la vaccination préventive de l'homme contre la fièvre ondulante. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, nov. 1930.)

87. SOLLIER (N.) et DUBOIS (Ch.). — Vaccination préventive de l'homme contre la fièvre ondulante. (*II Congrès International de Pathologie comparée*, Paris, 1931, Masson, éditeurs, t. II, p. 304.)
88. BOIVIN (A.). — Les antigènes microbiens. (*Paris Médical*, février 1938, p. 133-138.)
89. DUFFAU (Ed.). — Diagnostic bactériologique des brucelloses. (*Congrès des Brucelloses*, Oran, avril 1939.)
90. JAMBON (M.). — Diagnostic de la méliococcie. (*Journal Médical Français*, n° 3, t. XXV, mars 1936.)
91. HUDDLESSON et ABELL. — Rapid macroscopic agglutination for serum diagnosis of Bang's abortion disease. (*Journ. of infection diseases*, 1928, p. 242.)
— Biochemical method of differentiating Br. abortus from Bruc. melitensis. (*Journ. Bactériol. Balt.*, vol. 13, p. 13.)
92. GRAHAM et THORPS. — Agglutination lente et rapide. (*Journ. Of. o Vet. y Med. Ass.*, mai 1930.)
93. MIR-DAMADI (M.). — Le séro-diagnostic rapide dans la brucellose. (Thèse vétérinaire, Alfort, 1937.)
94. MÉRIEUX (Ch.). — Diagnostic des brucelloses. (*Bourgelat*, 2^e trimestre, 1936.)
95. MISSIROLI (A.). — La fissazione del complemento nella febbre of meditarrema. (*Policlinico*, toma 1912, 19 *Sez. Med.*, 414-421.)
96. JULLIEN et LAURENT (Thèse Laurent). — Sur la floculation des sérums méliococciques, Lyon, 1935.
97. BURNET (Et.). — Etude sur la fièvre méditerranéenne, diagnostic par filtrat de culture. (*Archives de l'Inst. Pasteur*, Afrique du Nord, II, fac. de juin 1922.)
98. BURNET (Et.). — Sur un nouveau procédé de diagnostic de la fièvre ondulante. (*C. R. Acad. des Sc.* 174, 6 fév. 1923.)
99. SOLLIER (N.) et DUBOIS (Ch.). — Valeur de l'intra-dermo-réaction à la mélitine. (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, sept. 1931, t. XLVII, p. 311.)

100. OLMER (D.). — La mélitine de Burnet, son intérêt pour le diagnostic, le traitement et la prophylaxie de la fièvre de Malte. (*J. Méd. Franc.*, 18, 182-186, mai 1929.)
 101. MÉRIEUX (Ch.). — Diagnostic des brucelloses par percuti-réaction. (*Archives Internationales des Brucelloses*, n° 3.)
 102. MÉRIEUX (Ch.). — Spécificité de la percuti-réaction dans le diagnostic des brucelloses. (*Congrès d'Oran*, avril 1939.)
-

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	15
Principes généraux de la percuti-réaction....	17

CHAPITRE PREMIER

Mise au point d'une tuberculine spéciale pour percuti-réaction

I. Identification de la primo-infection tuberculeuse	25
1° Mise en évidence du bacille de Koch.....	25
a) Perfectionnements des techniques de recherches	26
b) Amélioration des méthodes de prélèvements	28
2° Recherche indirecte du Bacille de Koch...	31
a) Méthodes sérologiques.....	31
b) Réactions tuberculiniques.....	32
II. Tuberculines et réactions cutanées.....	33
1° Divers modes de préparation des tuberculines	34
2° Principaux tests tuberculiniques.....	37
a) Cuti-réaction	38
b) Intradermo-réaction	40
c) Percuti-réaction	41

III. Expérimentation d'une nouvelle tuberculine, spéciale pour percuti-réaction.....	43
1° Préparation et titrage.....	45
2° Technique d'emploi.....	46
3° Expérimentation de la méthode.....	49
4° Cuti-réaction avec la tuberculine concentrée	53
IV. Interprétation des réactions tuberculiniques...	55

CHAPITRE II

La percuti-réaction à la toxine diphtérique concentrée remplacera-t-elle l'intra-dermo-réaction de Schick

I. Immunité anti-diphtérique.....	63
1° La défense locale de l'organisme n'est-elle pas appréciable	63
2° La présence d'antitoxine dans le sang peut être mise en évidence.....	64
II. Tests de l'immunité anti-diphtérique.....	67
1° Intra-dermo-réaction	67
2° Anatoxi-réaction	73
3° Cuti-réaction	74
III. Nouvelle méthode de percuti-réaction à la toxine diphtérique	79
1° Concentration de la toxine.....	79
2° Technique de la percuti-réaction.....	80
3° Valeur de la méthode.....	83
4° Inconvénient et avantages.....	84
IV. Interprétation des réactions d'immunité dans la diphtérie	87

CHAPITRE III

*Application nouvelle de la percuti-réaction
au dépistage des Brucelloses humaines*

I. Actualité des Brucelloses.....	93
1° Brucelloses animales	97
2° Brucelloses humaines	100
II. Techniques de diagnostic biologique des Brucelloses	105
1° Hémoculture	105
2° Séro-diagnostic	107
3° Agglutination rapide	109
4° Déviation du complément.....	111
5° Réaction de floculation.....	111
6° Intra-dermo-réaction	112
III. Essais de diagnostic des Brucelloses par percuti-réaction	117
1° Préparation de l'antigène.....	118
2° Mode d'emploi	121
3° Premiers résultats	121
IV. Interprétation des diverses méthodes de diagnostic des Brucelloses.....	127
CONCLUSIONS	139
BIBLIOGRAPHIE	133
